DER ENTWICKLUNGSZYKLUS VON TYPHULA INCARNATA LASCH ex FR.

– FEINSTRUKTURELLE UND FUNKTIONELLE ASPEKTE –

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
der Fakultät für Biologie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt von
BERTHOLD METZLER
aus Altshausen

1984

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546514_0027

DER ENTWICKLUNGSZYKLUS VON TYPHULA INCARNATA LASCH ex FR.

- FEINSTRUKTURELLE UND FUNKTIONELLE ASPEKTE -

Dissertation
zur Erlangung
des Grades eines Doktors der Naturwissenschaften
der Fakultät für Biologie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt von
Berthold Metzler
aus Altshausen
1984

Tag der mündlichen Prüfung: 1. März 1984

Dekan:	Prof. Dr. E. Kulzer
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. F. Oberwinkler
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. W. Loeffler

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Biologie I, Lehrbereich Spezielle Botanik, unter der Anleitung von Prof. Dr. F. Oberwinkler angefertigt.

Ich danke Herrn Prof. Dr. F. Oberwinkler für die Annahme des Themas, für die großzügige Unterstützung und für die anregenden Gespräche.

Danken möchte ich auch allen Mitarbeitern des Lehrbereichs Spezielle Botanik, die durch ihr freundliches Entgegenkommen in Diskussion und technischer Mithilfe zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Besonders erwähnen möchte ich Dr. R. Bauer, Dr. G. Deml, A. Quellmalz, C. Specht und S. Süßbrich.

Herrn Hüttemann, Institut für Geologie und Paläontologie der Universität Tübingen, danke ich für die Untersuchungen am Raster-Elektronenmikroskop.

Dem Cusanuswerk (Bischöfliche Studienförderung, Bonn) danke ich für ein Stipendium.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
1.1. Die Gattung Typhula Fr.	1
1.2. Typhula incarnata Lasch ex Fr.	1
1.3. Fragestellungen	2
2. MATERIAL UND METHODEN	4
2.1. Die Herkunft des Untersucnungsmaterials	4
2.2. Kulturbedingungen	5
2.2.1. Mycel aus Sklerotien	5
2.2.2. Einsporkulturen	5
2.2.3. Versuche mit einem Antagonisten	5
2.2.4. Versuche zur Fruchtkörperinduktion	6
2.2.5. Induktion der Konidienbildung	7
2.3. Kreuzungsexperimente	7
2.4. Versuche zur Aufklärung des Wirt-Parasit-Verhältnisses	8
2.5. Lichtmikroskopie	9
2.6. Elektronenmikroskopie	9
3. ERGEBNISSE UND DISKUSSION	11
3.1. Wachstumsbedingungen des Mycels	11
3.2. Anmerkungen zur Ultrastruktur des sterilen Mycels	12
3.3. Die Ultrastruktur der Sklerotialentwicklung	16

Seite

3.3.1. Ergebnisse 16

3.3.2. Diskussion 30

3.4. Die Fruchtkörperstruktur 36

3.4.1. Ergebnisse 36

3.4.2. Diskussion 53

3.5. Bedingungen der Konidiogenese 57

3.6. Konidiophor und Konidiogenese 60

3.6.1. Ergebnisse lichtmikroskopischer Untersuchungen 60

3.6.2. Ergebnisse elektronenmikroskopischer Untersuchungen 63

3.6.3. Diskussion 72

3.7. Kreuzungsexperimente 81

3.7.1. Kreuzungen mit haploiden Mycelien (Ergebnisse)

3.7.2. Kreuzungen mit Konidien (Ergebnisse) 82

3.7.3. Diskussion der Kreuzungsexperimente 86

3.8. Das Wirt-Parasit-Verhältnis 89

3.8.1. Ergebnisse 89

3.8.2. Diskussion 98

4. ZUSAMMENFASSUNG 101

5. LITERATUR 103

1. EINLEITUNG

1.1. Die Gattung Typhula Fr.

In der Gattung Typhula werden etwa sechzig Arten von Homobasidiomyceten zusammengefaßt, die kleine, meist unverzweigte clavarioide Fruchtkörper aufweisen, welche deutlich in Stiel und Clavula gegliedert sind und ein einfaches Hyphensystem haben; im Hymenium sind keine Cystiden, die Basidiosporen sind hyalin. Bis zu BERTHIERS Untersuchungen (1976) wurden nur sklerotienbildende Arten der Gattung Typhula zugeordnet. BERTHIER erweiterte das Gattungskonzept um die normalerweise nicht sklerotienbildenden Taxa Pistillaria und Pistillina. Er begründet dies mit großen Übereinstimmungen im Fruchtkörperbau. Weitere wichtige Arbeiten zur Gattung wurden von REMSBERG (1940) und CORNER (1950, 1970) veröffentlicht.

Typhula-Arten sind vor allem in den gemäßigten und borealen Teilen der Nordhemisphäre verbreitet. Sie wachsen meist auf verrottenden Pflanzenresten, einige von ihnen sind fakultative Parasiten (bzw. Perthophyten) auf krautigen Pflanzen. Ihr Wachstumsoptimum liegt meist bei relativ niedrigen Temperaturen und ihre Hauptwachstumsphase deshalb in der kalten Jahreszeit. Ihre im Frühjahr gebildeten Sklerotien überdauern den Sommer und erst im Spätherbst wachsen sie mit einem Fruchtkörper aus. Das haploide (sehr selten das dikaryotische) Mycel einiger Arten bildet hyaline Blastokonidien (BERTHIER 1976, REMSBERG 1940).

1.2. Typhula incarnata Lasch ex Fr.

BERTHIER (1976) stellt T. incarnata in die Untergattung Microtyphula wegen des 3,5-30 mm großen Fruchtkörpers mit langem schlankem Stiel, dessen nur schwach gelatinösen

randlichen Hyphen sowie wegen den regelmäßig vorhandenen Sklerotien mit wenig gelatinöser Medulla. T. incarnata ist weiter charakterisiert durch die rosa-farbene, zylindrische Clavula, einen weißlichen Stiel und den fakultativen Parasitismus auf Gramineen. BRUEHL et al. (1975) messen den gelegentlich fingerförmig oder radial gelappt ineinandergreifenden Rindenzellen der Sklerotien ebenfalls diagnostische Bedeutung zu.

T. itoana Imai wird von CORNER (1950) und BERTHIER (1976) unter T. incarnata synonymisiert. RØED (1969) untermauerte dies mit erfolgreichen Interfertilitätsstudien.

T. incarnata tritt als Auswinterungskrankheit insbesondere in der Wintergerste auf. Mit zunehmendem Anbau dieses Getreides hat in den letzten Jahren auch in Deutschland der Parasit sich stärker ausgebreitet (GRIGO; 1978, HINDORF 1980 a, b, MITTNACHT 1980), sein Auftreten ist aber von Jahr zu Jahr sehr witterungsabhängig. LEHMANN (1965 b) und VOLK (1937) fanden einen besonders starken Befall, wenn der Schnee auf nicht gefrorenen Boden fällt und lange liegen bleibt.

1.3. Fragestellungen

Typhula incarnata enthält im Ontogeniezyklus viele interessante Differenzierungen, die alle noch nicht feinstrukturell bearbeitet sind, meist auch nicht bei verwandten Taxa. Es sind daher bei diesen Untersuchungen neue Erkenntnisse zu erwarten, die zu besserem Verständnis der Funktionalität von einzelnen Strukturen beitragen und neuen Stoff für systematische Überlegungen liefern.

So waren bis zu dieser Untersuchung nur wenig Informationen über den Ablauf der Wanddifferenzierungen und damit verbundene Melanisierungsprozesse bei Sklerotien verfügbar, ebensowenig über den Feinbau des Fruchtkörpers.

Die Zellwände der Basidiosporen, welche bisher nur als glatt, hyalin sowie "sehr schwach amyloid" (BERTHIER 1976) charakterisiert sind, sollten in ihrer Schichtstruktur analysiert werden, da dieses Merkmal sich bei anderen Homobasidiomyceten als komplex und möglicherweise systematisch relevant herausgestellt hat (z.B. CLEMENÇON 1977, KOST 1981, KÜHNER 1973).

Besonderes Augenmerk verdient die Konidiogenese von T. incarnata. Sie wurde bisher nur von REMSBERG (1940) in einer schematischen Zeichnung dargestellt. Die ausführliche lichtmikroskopische Analyse von Konidiophoren anderer Typhula-Arten durch BERTHIER (1976) brachte sympodiale und annellidische Konidiogenesemuster zutage, welche sich jedoch teilweise auffallend ähneln. Mit T. incarnata wurde hier versucht, den Sachverhalt mit elektronenmikroskopischen Methoden weiter zu erhellen.

Die auf die haploide Phase beschränkte Konidiengeneration, der für Homobasidiomyceten ungewöhnlich differenzierte Modus der Konidiogenese, sowie die schleimige Zellwand der Konidien ließen die Vermutung aufkommen, es könnte sich um Spermatien im Sinne von KEMP (1975) handeln. Deshalb wurden mit diesen Konidien Kreuzungsversuche durchgeführt.

Zur Pathologie von Typhula incarnata wurden von LEHMANN (1965 b) und VOLK (1937) umfangreiche Feldversuche angestellt. Sie haben auch bereits einige histologische Befunde erarbeitet. Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es jedoch, die zellulären Interaktionen zwischen Wirt und Parasit insbesondere in den frühesten Infektionsstadien aufzuklären.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Die Herkunft des Untersuchungsmaterials

Sämtliche Funde und Isolate von Typhula incarnata gehen auf eigene Sammlungen zurück (Deutschland, Baden-Württemberg, Reutlingen-Betzingen, Rosenäcker). Im Frühjahr 1982 traten nach einer lang liegenden Schneedecke Auswinterungsschäden an Wintergerste (Sorte "Igri") auf. Abgestorbene Blätter mit Sklerotien des Pilzes wurden gesammelt (BM 401, 16.4.82). Der Befall mit Typhula-Fäule war nicht sehr schwer, so daß sich auch die meisten der befallenen Pflanzen bestockten. Auch noch nach der Ernte konnten an den Stoppeln Sklerotien gefunden werden.

Nachdem das Feld gefräst war, wurde Raps angebaut. Zwischen den Jungpflanzen dieser Folgefrucht wuchsen im Spätherbst Typhula-Fruchtkörper aus oberflächennahen Sklerotien. Diese Fruchtkörper wurden am 23.11.82 (BM 490) und am 1.12.82 (BM 494) gesammelt. Am 10.12.82 waren alle übrigen Fruchtkörper auf dem Feld abgestorben.

Befallene Gerstenpflanzen (Ausfallgetreide) traten noch im Frühjahr 1983 auf und wurden zu Wirt-Parasit-Studien herangezogen (BM 528, 15.3.83).

Sämtliche infizierten Wintergerstenpflanzen, sowohl im Freiland als auch in steriler Laborkultur, waren von der zweizeiligen Sorte "Igri", die als anfällig bekannt ist (MIELKE 1977).

Der Stamm BM 445 des potentiellen Antagonisten Trichoderma viride wurde von Frau Kisimova-Horovitz aus Erde isoliert (Österreich, Steiermark, Donnersbach, Planner Alpe, 25.8.82) und mir freundlicherweise zur Verfügung gestellt. Die Bestimmung wurde mit RIFAI (1969) durchgeführt.

2.2. Kulturbedingungen

2.2.1. Mycel aus Sklerotien

Sklerotien aus dem Freiland (BM 401 A) wurden nach Behandlung mit 70%igem Äthanol (1 min) mit einer 10% igen wässrigen Lösung von Dimanin C (Bayer) (7 min) oberflächensterilisiert und nach mehreren Waschungen in sterilem Wasser zur Mycelbildung aug MYP-Agar oder 2%igem Malzagar ausgelegt und bei 10°C in Dauerlicht oder Dauerdunkel oder bei 4°C UV-A-Beleuchtung (siehe 2.2.4.) oder Dauerdunkel incubiert.

MYP-Agar:
Malzextrakt 7,0 g
Difco Soytone 1,0 g
Hefeextrakt 0,5 g
Agar 20,0 g
Wasser (entmineralisiert) 1 l

2.2.2. Einsporkulturen

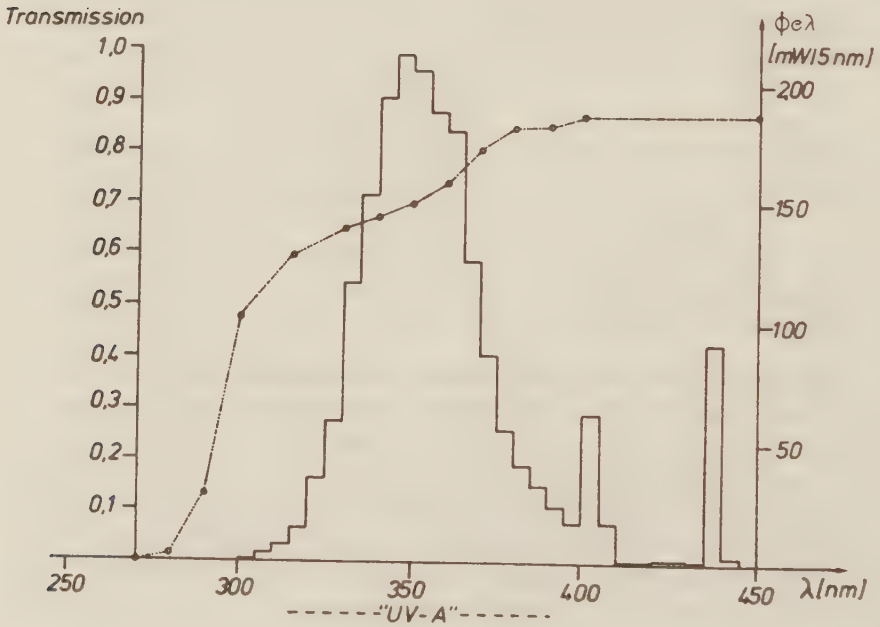
Fruchtkörper (BM 490, BM 494) wurden zusammen mit feuchtem Zellstoff an die Deckelinnenseite von Wasseragarplatten geklebt und bei 10°C in Dauerlicht incubiert. Damit sich die Basidiosporen möglichst weit auf einer Platte zerstreuen, wurden diese für die Zeit der Sporulation schräg aufgestellt. Nach 15 Stunden wurden die abgeschleuderten Basidiosporen unter dem Stereomikroskop mit einer Lanzettnadel vereinzelt und auf MYP-Agar gebracht.

2.2.3. Versuche mit einem Antagonisten

Um die Widerstandsfähigkeit von Sklerotialstrukturen gegen den potentiellen Antagonisten Trichoderma viride (vergl. DOMSCH et al. 1980) zu testen, wurde ein MYP-Agar-Impfstück

mit Mycel von T. incarnata (BM 494 PxT) auf eine Dialysierfolie über Wasseragar gebracht. Nach vier Wochen waren Mycel und pigmentierte Sklerotien auf der Dialysierfolie gewachsen, neben denen dann Impfstücke mit Trichoderma viride (BM 445) gesetzt wurden. Nach weiteren drei Wochen wurden die Sklerotien für die Elektronenmikroskopie fixiert (Ergebnisse in 3.3.).

2.2.4. Versuche zur Fruchtkörperinduktion



Graphik: Spektrale Strahlungsverteilung der Lampe Osram L 20W/79 bei 7°C nach Herstellerangaben (durchgezogene Linie); Transmission des Petrischalendeckels im UV-A-Bereich nach eigenen Messungen mit einem SP6 400 UV Spectrophotometer PYE Unicam (punktierte Linie); weitere Erklärungen im Text.

Drei bis vier Monate alte Sklerotien wurden in Petrischalen mit sterilem, feuchtem Quarzsand (Korngröße ca. 1 mm) gelegt und bei 4 - 6°C incubiert. Die Schalen wurden mit einer Osram L 20W/79 Leuchtstoffröhre im Abstand von 25 cm beleuchtet (8h/d). LEHMANN (1965a) und REMSBERG (1940) hatten gefunden, daß UV-Strahlung, tiefe Temperaturen und Feuchtigkeit wesentliche Faktoren zur Induktion von fertilen Sporophoren sind. Die spektrale Strahlungsverteilung ($\phi e\lambda$) der Lampe und die Transmission des Petrischalendeckels (Polystyrol) im UV-Bereich sind in obiger Graphik dargestellt.

2.2.5. Konidieninduktion

Haploide Mycelien der Stämme BM 494P, 494Q und 494S wurden auf MYP-Platten bei 10°C und Dauerlicht herangezogen. Nach etwa sechs Wochen wurden sie unter der UV-A-Lampe (wie 2.2.4.) incubiert und nach weiteren zehn Tagen untersucht. Parallelversuche liefen bei 10°C Dauerlicht und Dauerdunkelheit und bei 4°C Dauerdunkelheit.

2.3. Kreuzungsexperimente

Folgende Stämme aus Einsporkulturen wurden verwendet:
BM 494 K, M, N, O, P, R, S, T, U.

Die Inocula der einzelnen Stämme wurden paarweise permutiert und in je eine Petrischale mit MYP-Agar im Abstand von ca. 3 cm gesetzt und dann bei 10°C Dauerlicht vier Wochen lang incubiert. Zwei Stämme wurden als miteinander kompatibel angesehen, wenn sie nach dieser Zeit Schnallenmycel bildeten.

Folgende Methode diente zur Klärung der Frage, ob Konidien

als Kernüberträger fungieren können: Vom Stamm BM 494 S stellte ich eine Konidiensuspension her, indem ich mit sterilem Wasser (0,5 ml) aus einer ca. 8 Wochen alten Agar-Kultur Konidien abwusch (vergl. 2.2.5.). Mit einer Thoma-Zählkammer wurde der Konidiengehalt einer Stichprobe ermittelt: 11 000 Konidien/mm³. Diese Suspension wurde auf 7 Tage alte Objektträgerkulturen von BM 494 P aufgetragen (Die Stämme 494 S und 494 P sind kompatibel, siehe Tabelle in 3.7.). Nach ein bis zwei Tagen untersuchte ich die Objektträger lichtmikroskopisch, ob zwischen Konidien und Mycel Kopulationsbrücken ausgebildet wurden oder ob bereits Schnallenmycel wuchs.

2.4. Versuche zur Aufklärung des Wirt-Parasit-Verhältnisses

Zur Klärung des Wirt-Parasit-Verhältnisses wurde infiziertes Material aus dem Freiland licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Um dazu auch frühe Infektionsstadien untersuchen zu können, wurden folgende Versuche angestellt:

a) Anzucht von sterilen Wintergerstenpflanzen
Samen der Sorte "Igri" wurde entspelzt, oberflächensterilisiert wie die Sklerotien aus dem Freiland (siehe 2.2.1.), auf Wasseragar bei 10°C incubiert, die Keimlinge nach zwei Wochen in 200 ml Erlenmeyerkolben mit ca. 80 ml Perlite und 60 ml Knops Nährlösung übertragen und in einer Klimakammer mit 4°C und 12 Stunden Tageslänge aufgestellt.

b) Infektionsversuche mit Basidiosporen
Sterile Blätter von vier Wochen alten Gerstenpflanzen wurden abgeschnitten und auf Wasseragar gelegt. Ein Teil davon wurde für einige Stunden bei -18°C eingefroren. Frische Fruchtkörper von T. incarnata (BM 494) wurden mit Hilfe eines Agarblocks für 24 Stunden bei 10°C ca. 5 mm

über den Blättern zur Sporulation fixiert. Nach drei Tagen bei 4°C wurden die Blätter, auf welche Basidiosporen gefallen waren, lichtmikroskopisch untersucht.

c) Infektionsversuche mit Mycel
Um erste Infektionsstadien auch in Dünnschnitten für die Transmissions-Elektronenmikroskopie erfassen zu können und um Vorgänge bei hohem Befallsdruck auf frischen Blättern zu studieren, wurden kleine Agarblöckchen mit Mycel (BM 494 PxT) auf frisch abgeschnittene, ca. vier Wochen alte Blätter gelegt und bei 4°C incubiert. Nach einer Woche wurden infizierte Blattstückchen für TEM-Untersuchungen fixiert.

Einige Jungpflanzen wurden mit haploidem Mycel beimpft (494 R) und dadurch infizierte Wurzeln anatomisch untersucht.

2.5. Lichtmikroskopie

Die Untersuchungen wurden an Frischmaterial in Wasser, Kalilauge oder Lactophenol oder an ca. 1 µm dicken, mit Kristallviolett gefärbten Semidünnschnitten von Präparaten durchgeführt, die für die Transmissions-Elektronenmikroskopie angefertigt worden waren (siehe 2.6.). Es wurde ein Zeiss-Standard-Mikroskop mit Phasenkontrasteinrichtung und Photoaufsatz verwendet.

2.6. Elektronenmikroskopie

Die Proben für die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) wurden meist wie in METZLER (1981) präpariert und untersucht. Die Glutaraldehydfixierung nahm ich bei 4°C vor, um Wärmeartefakte zu vermeiden (vergl. Abb. 2). Einige Stadien wurden auf Dialysiermembranen (Visking) herangezogen und in einem abgekürzten Verfahren präpariert und "flach" eingebettet (SCHMITTER 1984).

Die Präparate für das Rasterelektronenmikroskop (REM) wurden wie in SAUTTER (1978) angefertigt (Glutaraldehyd-Osmium-Fixierung, Entwässerung mit Äthanol, Kritisch-Punkt-Trocknung aus CO_2). Die Konidiophorenpräparate wurden nach 15-minütiger Osmium-Fixierung für 5 Minuten in .1n HCl übertragen, um die Schleimschicht zu reduzieren, und dann wieder in das Fixans zurückgebracht. Die Proben wurden nach einer Gold-Palladium-Besputterung am Institut für Geologie und Paläontologie der Universität Tübingen an einem "Cambridge S 250" untersucht.

3. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

3.1. Wachstumsbedingungen des Mycels

Die Sklerotien (BM 401 A) wuchsen bei 10°C bei Dauerlicht und in Dauerdunkelheit auf MYP-Medium nach fünf Tagen mit vorwiegend submersem Mycel aus. Die Wachstumsgeschwindigkeit lag bei 2 mm pro Tag. Das Wachstum bei 4°C beträgt in Dunkelheit etwa 1,7 mm , unter UV-A-Beleuchtung (8h/d) etwa 1,5 mm pro Tag. Unter UV-Einfluß wuchs das Mycel eher in Bündeln, während es sonst gleichmäßig fächerartig vom Inoculum ausgeht. Ausführliche Versuche zum Wachstum von verschiedenen psychrophilen Typhula-Arten wurden von DEJARDIN et al. (1970) durchgeführt (Wachstumsminimum: -5°C, -optimum +10°C, -maximum +20°C).

Sklerotien werden auf Agar in konzentrischen Ringen oder unregelmäßig zerstreut angelegt. Ohne Licht wurden weniger aber größere Sklerotien (bis 10 mm) gebildet, die schwächer pigmentiert waren als in Kulturen mit Beleuchtung. Besonders klein (oft unter 1 mm), zahlreich und stark pigmentiert sind die Sklerotien, die unter UV-Beleuchtung entstanden.

Haploide Mycelien wachsen bei 10°C etwa 1,5 mm pro Tag mit größeren stammspezifischen Unterschieden. Der Stamm 494 N wächst mit 0,3 mm pro Tag besonders langsam. Die meisten bilden auch Sklerotien wie dikaryotische Mycelien.

Neben weiteren Komplexmedien (z.B. Maismehlagar, BRUEHL & MACHTMES et al. 1975) kann T. incarnata auch chemisch definierte Medien mit $NaNO_3$, NH_4Cl oder Glutaminsäure als einziger Stickstoffquelle und Maltose, Glukose oder Fruktose als einziger Kohlenstoffquelle verwerten (SWEETS et al. 1976). Diese ausgeprägte Fähigkeit zum saprophytischen Wachstum zeigt sich auch im Wirt-Parasit-Verhältnis (siehe 3.7.).

Das saprophytische Wachstum von T. idahoensis im Boden wird durch HUBER et al. (1976) gezeigt, welche 5 - 8 Wochen nach der Aussaat von Wintergetreide verschiedene organische Materialien, unter anderem Chitin, in den Boden einarbeiteten. In den behandelten Flächen trat dann ein wesentlich verstärkter Typhula-Befall ein. Um - wie beabsichtigt - eine Antagonistenflora aufzubauen, hätte die organische Düngung wesentlich früher erfolgen müssen. Zudem kann die Wachstumsfähigkeit von Typhula-Arten bei tiefen Temperaturen als eine ökologische Nische betrachtet werden, die potentielle Antagonisten mit höherem Wachstumsoptimum ausschließt.

3.2. Anmerkungen zur Ultrastruktur des sterilen Mycels

Zum Doliporus: Das Lochmuster von tangential geschnittenen Parenthesomen wurde bei 28 000-facher Vergrößerung an fünf verschiedenen Septen ausgemessen. Für die Lochgröße ergab sich ein Durchschnittswert von 62 nm (Einzelwerte: 54, 57, 57, 60, 64, 64, 71, 71). Der Abstand von einem Lochmittelpunkt zum nächsten betrug im Schnitt 99 nm (Einzelwerte: 87, 89, 95, 98, 107, 107, 107, 107) (vergl. Abb. 4).

Im Lochmuster des Parenthesoms weisen verschiedene Ordnungen der Basidiomyceten deutliche Charakteristika auf (FLEGLER et al. 1976, KHAN et al. 1982). PATTON et. al. (1978) fanden bei Meßreihen an einer kleinen Auswahl von Pilzen weitere signifikante Unterschiede (Kriterien 8 und 9).
Ob nun tatsächlich das Lochmuster im Parenthesom feinere phylogenetische Linien aufzeigt als bisher bekannt, muß noch durch weitere repräsentative Messungen geklärt werden. Jedenfalls wäre es verfrüht, aufgrund der vorliegenden Messergebnisse eine Beziehung zwischen Typhula und der Gasteromycetengattung Nidularia, welche nach den Werten von PATTON et al. T. incarnata am nächsten kommt, als erwiesen anzusehen.

Dagegen sind in der Parenthesomdicke nur geringe Unterschiede zwischen zwischen verschiedenen Pilzgruppen festzustellen. Das Ausmessen des Doliporenwulstes erscheint mir noch wenig sinnvoll, da sich herausgestellt hat, daß die gebräuchliche Glutaraldehyd-Osmium-Fixierung (GA/OsO_4) zu starken artifiziellen Veränderungen führt (HOCH et al. 1981).

Die Konitinuität des Parenthesoms mit zellwandnahem ER läßt sich besonders gut bei $KMnO_4$-fixierten Hyphen darstellen. Abb. 1 zeigt ER mit zwei integrierten Parenthesomen auf einem Paar von Schnallensepten. Das spricht dafür, daß beide Septenporen gleichzeitig ausdifferenziert werden. Das ER hat sicherlich die Aufgabe, das Parenthesom am Septenporus zu stabilisieren und zu verhindern, daß es durch Plasmaströmungen weggespült wird. Nur selten sind abgedriftete Parenthesome zu sehen.

In Hyphen von älteren Kulturen finden sich gelegentlich linsenförmige Zellwandauflagerungen (Abb. 3). Sie sind durch ihre Elektronendurchlässigkeit deutlich von der Zellwand zu unterscheiden. Von den Zellwänden ausgehend, durchzieht sie eine feine lamelläre Struktur. Diese ungewöhnlichen Zellwandappositionen treten sonst nur in Sklerotienzellen auf (siehe 3.3.).

Abb. 1: Schnallenseptum; zellwandnahes ER mit zwei integrierten Parenthesomen (Pfeile). $KMnO_4$, Flacheinbettung; Meßstrich ≙ 2 µm.

Abb. 2: Angeschwollene Hyphenspitze nach zweistündiger Incubation bei 22°C. GA/OsO_4, Flacheinbettung; Meßstrich ≙ 5 µm.

Abb. 3: Linsenförmige Zellwandauflagerungen (*), wie sie sonst nur in Sklerotien vorkommen, hier in einer Hyphe, die auf einer Dialysierfolie wuchs. GA/OsO_4, Flacheinbettung; Meßstrich ≙ 2 µm.

Abb. 4: Tangential geschnittenes Parenthesom mit charakteristischem Lochmuster. GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 0,5 µm.

Abb. 5: Median geschnittener Doliporus mit zwei elektronendichten Verschlüssen. GA/OsO_4. Meßstrich ≙ 0,5 µm

Abb. 6: Doliporus auf der Seite der toten Zelle degeneriernd; es zeigt sich, daß der Wulst sich fast in nichts auflöst. GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 0,5 µm.

1
2
3
4
5
6

3.3. Die Ultrastruktur der Sklerotialentwicklung

3.3.1. Ergebnisse

Um die Ontogenie von Sklerotien zu klären, wurden verschieden alte Sklerotien aus Agarkulturen untersucht.

Frühe Stadien der Sklerotienbildung sind im Substratmycel als weiße Knäuel auszumachen. EM-Aufnahmen eines wenige Tage alten Hyphenknäuels zeigen die Abb. 7 und 8. Es hat einen Durchmesser von ca. 70 µm. Besonders auffallend ist, daß neben normal-dünnen Hyphen auch ungewöhnlich dicke Hyphen mit bis zu 9 µm Durchmesser wachsen. Sie sind meist sehr kurzzellig und bilden Verzweigungen aus. Obwohl noch reichlich Interzellularraum vorhanden ist, drängen sich die Hyphen bereits und werden unregelmäßig geformt. Schnallen wurden in diesem dikaryotischen Sklerotium nicht gefunden.

Eine weitere Sklerotienanlage (Abb. 9, 10, 11), nur wenig älter als die bereits besprochene und etwa 380 µm groß, zeigt drei zusätzliche Differenzierungen:
- Es bildet sich eine kompakte Rindenschicht aus dicht aneinanderliegenden Zellen aus.
- Die Zellwände an der Oberfläche des Sklerotiums zeigen elektronendichte Appositionen an ihrer Innenseite. Ferner sind kleine Schollen des gleichen, schwarz erscheinenden Materials unregelmäßig in der Zellwand und an deren Außenseite verteilt. Die Substanz scheint durch die Zellwand nach außen zu dringen. Gleichzeitig wird die Außenzellwand durch reguläres Wandmaterial verdickt.
- Das Lumen der meisten Zellen im Inneren des jungen Sklerotiums wird zunehmend durch mehrere Mikrometer große, linsenförmige Zellwandauflagerungen eingeengt. Diese Auflagerungen sind elektronendurchlässig und werden von fein-lamellären Zellwandstrukturen durchzogen. Manchmal ist ihnen von innen eine zusätzliche grau-lamelläre Wandschicht aufgelagert (vergl. 3.2., Abb.3).

Bei einem etwa zwei Wochen alten, bereits schwach pigmentierten Sklerotium von ca. 0,8 mm Größe (Abb. 12) ist die Außenwand der Rindenzellen bereits auf 1 µm verdickt und über den ganzen Querschnitt von den erwähnten schwarzen Schollen durchsetzt. Die Zellen im Inneren des Sklerotiums sind jetzt dichter gepackt, lassen kaum noch Interzellularraum frei und sind durch eine dünne Schleimschicht miteinander verbunden.

Zwei bis vier Wochen nach ihrer Initiation werden die Sklerotien zunehmend dunkler rot-braun bis fast schwarz, können aber noch weiter wachsen. In dieser Zeit sondern sie oft Exudattropfen ab. Die Rindenzellen von reifen Sklerotien haben zur Außenseite hin eine ca. 3 µm dicke im EM schwarz erscheinende Zellwandschicht, die sich fast homogen über die Zellgrenzen hinweg auf die gesamte Sklerotienoberfläche erstreckt. Das Lumen dieser Rindenzellen wird noch weiter eingeengt durch eine im ganzen Zellumfang gleichmäßig etwa 1 - 2 µm dicke, regelmäßig hell erscheinende Zellwandschicht; so bleibt nur ein geringes Restlumen, welches durch eine schwarz erscheinende Masse ausgefüllt ist (Abb. 17, 19).

Die Medullazellen (Medulla: Sklerotialgewebe innerhalb der Rinde) sind entweder durch gleichmäßige, durch linsenförmige oder durch beide Arten von Auflagerungen dickwandig. Wenn überhaupt noch ein Restvolumen vorhanden ist, so ist dieses ebenfalls oft mit schwarz erscheinender Substanz gefüllt. Zellen mit erkennbar vitalem Plasma sind in ruhenden Sklerotien nicht sehr häufig. Eine Differenzierung der Medulla in Cortex und innere Medulla ist nicht ausgebildet.

Die Durchlichtuntersuchungen von oberflächenparallelen Schnitten zeigen ein typisches Epidermoidmuster mit z.T. fingerförmig ineinandergreifenden Zellen. Diesbezüglich konnte zwischen mono- und dikaryotischen Sklerotien kein Unterschied festgestellt werden (vergl. Abb. 14, 15).

Abb. 7, 8: Wenige Tage alte Sklerotienanlage von ca. 70 µm Durchmesser. Die Zellen sind hier dicker und kürzer als im Substratmycel. Die Vakuolen enthalten elektronendichtes Material, wahrscheinlich Metaphosphat. Die Rindendifferenzierung hat noch nicht begonnen. GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 10 µm.

7
8

Abb. 9-11: Ein etwa eine Woche altes Sklerotium (Durchmesser ca. 380 µm) aus einer Agar-Kultur. GA/OsO_4.

Abb. 9: Übersicht über die beginnende Differenzierung der Rinden- und Medullazellen. Meßstrich ≙ 20 µm.

Abb. 10: Medullazellen mit linsenförmigen Zellwandappositionen. Meßstrich ≙ 5 µm.

Abb. 11: Beginnende Rindendifferenzierung. Die Zellen sind hier dichter gepackt. An der Außenseite beginnt die Zellwand sich zu verdicken, während sie von noch inhomogenem Melanin infiltriert wird (Pfeile). Meßstrich ≙ 2 µm.

9
10
11

Abb. 12: Weitere Verdickung der Außenwand mit Melaneinlagerung bei einem etwa zwei Wochen alten Sklerotium von ca. 0,8 mm Größe. Die besonders dicke Schicht an den Zellgrenzen verstärkt den Kontrast von Tangentialschnitten (z.B. Abb. 15,15). GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 3 µm.

Abb. 13: Semidünnschnitt durch ein Sklerotium aus dem Freiland. R: Rinde, M: Medulla. Meßstrich ≙ 50 µm.

Abb. 14: "Epidermoidstruktur" von einem Sklerotium eines haploiden Stammes (494 R); Tangentialschnitt. Meßstrich ≙ 5o µm.

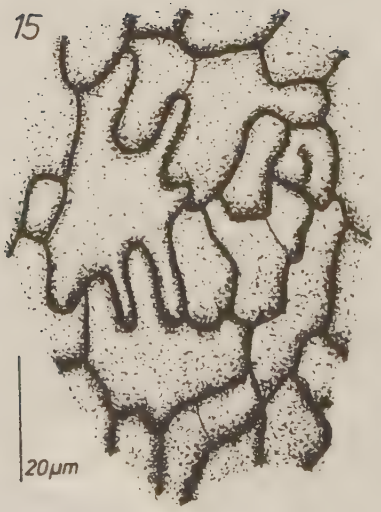


Abb. 15: Rinde mit "Epidermoidstruktur" von einem Sklerotium eines dikaryotischen Stammes (401); charakteristisch sind die fingerförmig ineinandergreifenden Zellen. Tangentialschnitt.

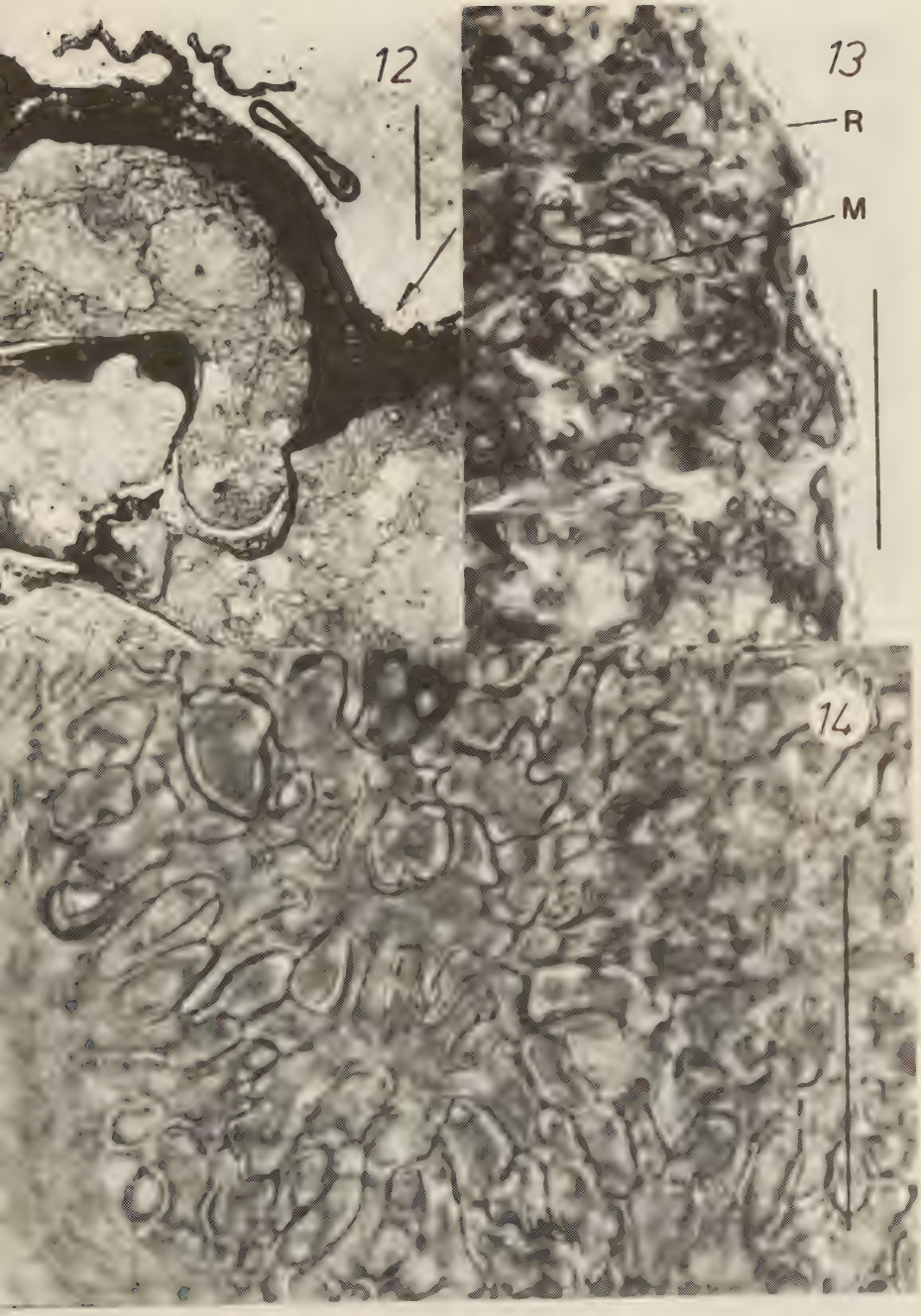
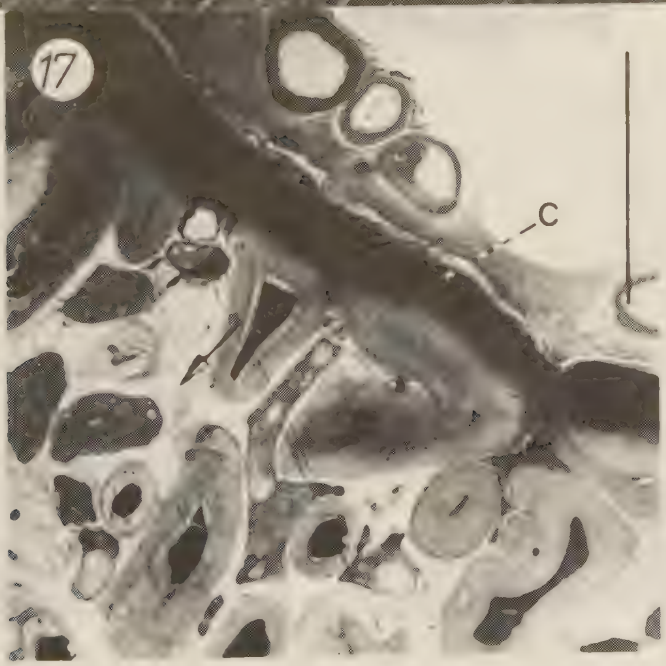

12
13
R
M
14

Abb. 16: REM-Aufsicht auf die Rinde eines Sklerotiums. Die typische Epidermoidstruktur ist nicht sichtbar; einzelne aufgelagerte Hyphen sind in eine amorphe Matrix eingebettet. Meßstrich ≙ 20 µm.

Abb. 17: Schnitt durch ein Sklerotium während der karpogenen Keimung. Dicke Zellwände und linsenförmige Appositionen werden durch dünnwandige Hyphen abgebaut (Pfeil). Reife Rindenzellen sind dickwandig; die Außenwand ist zum Teil als melanisierte "Cuticula" (C) differenziert. Die gelegentlich außerhalb der Rinde angelagerten Hyphen entsprechen denen, die in Abb. 16 sichtbar sind. Meßstrich ≙ 10 µm.

16


17
C

19
18

Abb. 18: Bei 4°C unter UV-A-Beleuchtung keimendes Sklerotium (Semidünnschnitt); aufgebrochene Rinde (Pfeile). Meßstrich ≙ 100 µm.

Abb. 19: Längsschnitt durch die Stielbasis des keimenden Sklerotiums (wie Abb. 18). Zwischen den vitalen Hyphen, die zum Fruchtkörper führen, sind noch Zellwandreste und elektronendichter Zellinhalt von Sklerotialzellen sichtbar (Pfeile). GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 10 µm.

Abb. 21, 22: Ein von Trichoderma viride (T.v.) abgebautes Sklerotium. GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 5 µm.

Abb. 20: Von der Rinde sind nur noch die melanisierten Teile der Zellwände übrig (die "Cuticula").

Abb. 21: Im Inneren des Sklerotiums sind neben Trichoderma-Hyphen noch Tropfen elektronendichten Materials (Pfeile), vermutlich früherer Inhalt von Sklerotialzellen (vergl. Abb. 17, 19).

20
T.v.
21
T.v.

In der REM-Aufsicht erscheint die Sklerotialoberfläche amorph (Abb. 16). Gelegentlich sind der Rinde Hyphen aufgelagert. Sie sind meist nekrotisch und haben unterschiedlich dicke, teilweise melanisierte Zellwände und sind in eine schleimige Matrix eingebettet (Abb. 16, 17, 19).

Auf die Bildung von Sklerotien im Wirtsgewebe wird in 3.8. eingegangen. Reife, unter natürlichen Bedingungen im Freiland gewachsene Sklerotien zeigten keine morphologischen Unterschiede zu Sklerotien aus Agar-Kulturen, waren aber meist kleiner (ca. 0,5 - 2,5 mm).

Versuche zur Widerstandsfähigkeit der Sklerotien gegen Trichoderma viride zeigten, daß nur die melanisierte Rindenschicht dem potentiellen Antagonisten (DOMSCH et al. 1980) standhält, während die Medulla zersetzt wird (Abb. 20, 21).

Bei der karpogenen Keimung platzt die Rinde dort auf, wo das Bündel der Stielhyphen eines jungen Fruchtkörpers aus einem Sklerotium auswächst (Abb. 18). In einem keimenden Sklerotium wachsen viele dünnwandigen Hyphen zwischen den dicken Medulla-Zellwänden und lösen diese offensichtlich auf (Abb. 17). An der Stielbasis sind Zellfragmente des Sklerotiums mit den wachsenden Stielhyphen vermischt (Abb. 19).

3.3.2. Diskussion

Die Sklerotienanlagen entstehen im Substrat durch verstärkte Verzweigung von Hyphen, die zum Teil sehr dick und kurzzellig sind und zunächst eine dünne, hyaline Zellwand haben. VOLK (1937) spricht noch von einer zweiten Art der Sklerotienbildung: Die Anschwellung und Braunfärbung von Hyphenspitzen oder die rosenkranzartige Anschwellung von Hyphen, was dann zu einer aus der Natur nicht bekannten "sklerotialen Kruste" führt. Nach eigenen Beobachtungen schwellen Hyphenspitzen von

T. incarnata innerhalb kurzer Zeit an, wenn die Kulturen aus dem Kühlraum in Zimmertemperatur von über 20°C gebracht werden. Dies deckt sich auch mit VOLKS Angabe, daß "sklerotiale Krusten" fast nur bei höheren Temperaturen vorkommen. Es handelt sich also nicht um eine echte zweite Art der Sklerotienbildung.

Noch während des Sklerotienwachstums beginnt an manchen Stellen die Ablagerung einer stark kontrastierenden Substanz, mit größter Wahrscheinlichkeit Melanin (vergl. BLOOMFIELD et al. 1967, CHET et al. 1967, 1969), an der Außenseite der sich differenzierenden Rindenzellen. Das Melanin bzw. seine Ausgangsverbindung scheint zunächst flüssig zu sein und wird durch das Plasmalemma abgegeben. Ansammlungen dieser Substanz bilden sich zwischen Plasmalemma und Zellwand, von wo aus die lamelläre Wand - anfangs noch inhomogen - durchdrungen wird (Abb. 11). Gleichzeitig wird hier Wandmaterial abgelagert, so daß die Außenwand der Rindenzellen immer dicker wird und eine "Cuticula" ausbildet (Abb. 12; Abb. 22, B_1, B_2). An den Zellgrenzen wird diese "Cuticula" besonders dick (Abb.12), weshalb diese in der LM-Aufsicht wohl besonders gut sichtbar sind, obwohl die Oberfläche im REM amorph und mehr oder weniger glatt erscheint (Abb. 16; vergl. BRUEHL & CUNFER 1975). Die breite Kontaktzone kann sicherlich auch die interzelluläre Verbindung durch polymerisiertes Melanin verbessern und somit die mechanische Festigkeit der Rinde erhöhen.

Die "Cuticula" des Sklerotiums (CORNER 1950, BERTHIER 1976) erweist sich also nach den ultrastrukturellen Ergebnissen als mit Melanin incrustierter Teil der Zellwand und nicht - wie bei den höheren Pflanzen - als Wachsauflagerung.

Melanin ist in vielen Oranismengruppen als Dunklungs- und Härtungsmittel verbreitet. Es entsteht durch Oxidation und Polymerisation von phenolischen Ausgangssubstanzen unter Einwirkung von Polyphenoloxidase (Laccase) und Luft-

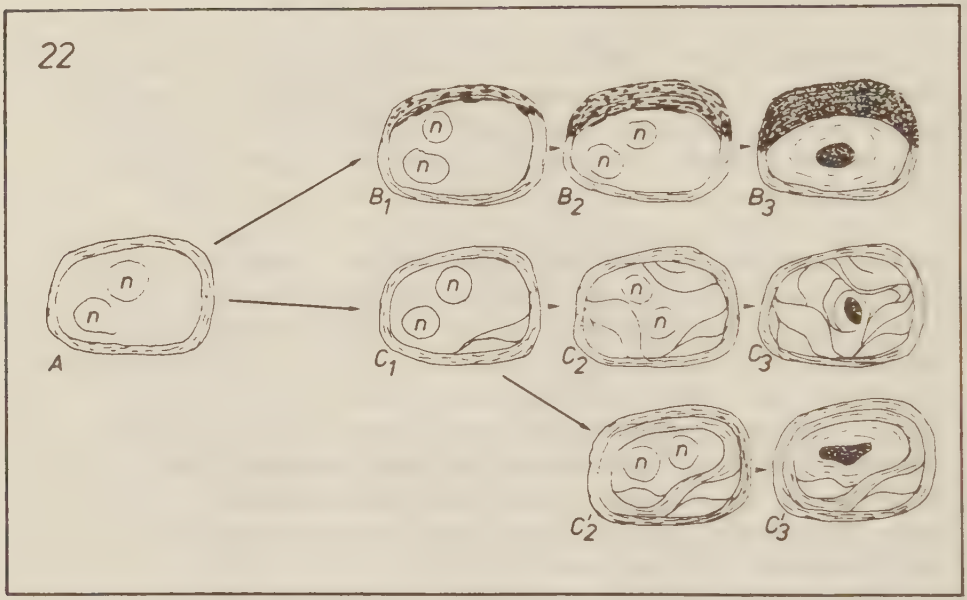


Abb. 22: Schematische Darstellung von Zelldifferenzierungen in Sklerotien von Typhula incarnata (n: Zellkern).

A Wenig differenzierte, teilungsfähige Zelle, die sich während des Sklerotienwachstums in verschiedener Weise differenzieren kann.

B Differenzierung der Rindenzellen an der Sklerotienoberfläche.

$B_{1,2}$: Zellwandverdickung an der Außenseite und gleichzeitige zunächst inhomogene Melanineinlagerung.

B_3: Abgeschlossene Außenwandverdickung mit homogener Melanineinlagerung ("Cuticula"). Weitere Einengung des Zellumens durch gleichmäßige Wandverdickung. Das Restlumen ist wahrscheinlich mit einem Melanin-Precursor gefüllt.

C Zelldifferenzierungen in der Medulla

C_{1-3}: Fortschreitende Einengung des Zellumens durch linsenförmige Zellwandappositionen.

$C'_{2,3}$: Linsenförmige und gleichmäßige Wandverdickungen können abwechslungsweise abgelagert werden.

Medullazellen mit vitalem Plasma (wie A, $C_{1,2}$, C'_2) sichern das Überleben und die Auskeimung des Sklerotiums.

sauerstoff, weshalb nur oberflächennahe Strukturen melanisiert werden können. Den Pilzen werden vorwiegend Indol- und Catechol-Melanine zugeschrieben (ROSENBERGER 1978). CHET & HÜTTERMANN (1982) fanden verstärkte Polyphenoloxidase-Bildung in wachsenden Sklerotien von Sklerotium rolfsii (Teleomorph: Athelia rolfsii (CURZI) TU & KIMBROUGH).

Es ist denkbar, daß es sich bei der schwarzen Masse in den Zellen mit den stark verdickten Zellwänden um einen Melanin-Precursor handelt, da sie ebenso elektronendicht ist, wie die Melaninablagerungen (Abb. 17, 19). Auch wird die Substanz offenbar weder von Trichoderma viride (Abb. 20, 21) noch während der karpogenen Keimung angegriffen (Abb. 19).

Die weitgehende Resistenz der "Cuticula" gegen den Abbau durch den potentiellen Antagonisten Trichoderma viride muß dem Melanin zugeschrieben werden. Verschiedene Autoren haben bereits die protektive Wirkung des Melanins gegen zellwandabbauende Enzyme nachgewiesen (BLOOMFIELD et al. 1967, ROSENBERGER 1978). Daß T. viride trotzdem das Sklerotium von innen heraus abbauen konnte, liegt wahrscheinlich daran, daß das Wachstum des Sklerotiums noch nicht an der gesamten Oberfläche eingestellt war und deshalb noch nicht ausreichend melanisierte Stellen aufwies, wo T. viride eindringen konnte.

Neben der melanisierten "Cuticula" haben gleichmäßig starke Zellwandverdickungen in den Rinden- und in vielen Medullazellen zusätzliche Festigungsfunktion.

Weniger zur Festigung geeignet erscheinen die bisher unbekannten linsenförmigen Zellwandauflagerungen, welche lokalisiert auftreten und bis zu einigen Mikrometern groß sind. Sie sind gut elektronendurchlässig und von feinen Zellwandlamellen durchzogen, was beides auf ihren Polysaccharid- bzw. Chitincharakter deutet. Ihre Funktion als

Kohlehydrat- und Stickstoffspeicher ist daher naheliegend. Während der karpogenen Keimung werden sowohl gleichmäßig verdickte Zellwände als auch die linsenförmigen Auflagerungen von jungen Hyphen aufgelöst und ihre Monomere offensichtlich dem jungen Fruchtkörper als Energielieferanten und Strukturstoffe zugeführt. Daß dicke Zellwände in Sklerotien als unlösliche Reserven für Hungerzeiten und Keimung angelegt werden, gibt auch WILLETS (1972) an.

Es sollte geprüft werden, ob die bemerkenswert differenzierten linsenförmigen Zellwandappositionen auch in anderen Organismen verbreitet sind und systematische Bedeutung haben.

SCURTI et al. (1965) konnten in einem Sklerotium, das sie einer Typhula pathogena zuordnen, Glykogen, Lipide und Metaphosphat mit histochemischen Methoden nachweisen. Letzteres fanden sie als dunkle Körper in Vakuolen (vergl. Abb. 7, 8), wie sie auch häufig in Basidien zu finden sind (siehe 3.4.).

Die während des Sklerotienwachstums häufig beobachtete Exudatbildung (REMSBERG 1940, WILLETS 1978) wird als Ausscheidung überflüssigen Wassers, welches mit den Nährstoffen aus dem Substrat aufgenommen wird, gedeutet. COLOTELO et al. (1971) führen bei Sclerotinia die Exudatbildung auf die Verdrängung des Plasmas infolge der Zellwandverdickungen zurück.

Bei der karpogenen Keimung erschließen vitale Zellen im Inneren des Sklerotiums unter Wasseraufnahme die Substratvorräte und wachsen zu Fruchtkörperinitialen aus.

Die aufgeführten Differenzierungen stehen alle im Zusammenhang mit der Funktion der Sklerotien als Überdauerungsorgane. Bei T. incarnata müssen sie in der Zeit von März

bis Oktober wechselnden Klimaeinflüssen, insbesondere Sommerhitze und Trockenheit, sowie mikrobiellen Angriffen standhalten. Gegen letztere kann auch die starke antibiotische Aktivität nützlich sein, die COLEY-SMITH (1979) bei Vorversuchen an T. incarnata-Sklerotien beobachtet hat. Die Überdauerungsfähigkeit, die geringe Größe und das mögliche Ablösen vom Substrat machen die Sklerotien auch zu Verbreitungseinheiten. Bei T. trifolii wird von effektiver Verbreitung im Saatgut berichtet (NOBLE 1937).

Die Sklerotien können innerhalb der Gattung Typhula zur Artcharakterisierung herangezogen werden (BERTHIER 1976, BRUEHL et al. 1975, REMSBERG 1940). Zum Merkmal "Cutis", eine Mycelschicht außerhalb der Rinde, muß aber bemerkt werden, daß sie bei T. incarnata nicht immer fehlt, wie bei o.g. Autoren angegeben, sondern sie kann wohl in Abhängigkeit von Wachstumsbedingungen gelegentlich im Freiland und in Laborkulturen auftreten.

Das Vorhandensein von Sklerotien allein stellt kein systematisch bedeutsames Merkmal das, weil sie in ganz verschiedenen Pilzgruppen in einer großen ontogenetischen und strukturellen Vielfalt auftreten und deshalb als konvergente Bildungen angesehen werden müssen (WILLETS 1972). Auch im System der Basidiomyceten sind verschiedene Modi der Sklerotienbildung weit verstreut (KENDRICK & WATLING 1979). Um Zusammenhänge zu klären müssen Entwicklung und Feindifferenzierung möglichst genau untersucht werden.

OBERWINKLER (1979) stellte nach detaillierten lichtmikroskopischen Merkmalsanalysen an Sklerotien und Fruchtkörpern von Typhula phacorrhiza und Collybia tuberosa die These auf, daß die beiden Gattungen unterschiedlicher Organisationsstufen einer natürlichen Verwandtschaft angehören. Der Vergleich der Ultrastruktur von Basidiosporen untermauert seine These (vergl. 3.4.). Die Sklerotienontogenie von C. tuberosa sollte noch elektronenmikroskopisch bearbeitet und mit der vorliegenden Studie an Typhula verglichen werden.

3.4. Die Fruchtkörperstruktur

3.4.1. Ergebnisse

Unter den Bedingungen, die in 2.2.4. beschrieben sind, keimten zwar viele Sklerotien innerhalb von zwei bis sechs Wochen mit einem kompakten Stiel aus, anstatt der Clavula bildete sich jedoch eine sterile, köpfchen- bis federförmige Struktur aus. Gelegentlich schwoll der Stiel zu einem sich pigmentierenden sekundären Sklerotium an (Abb. 23).

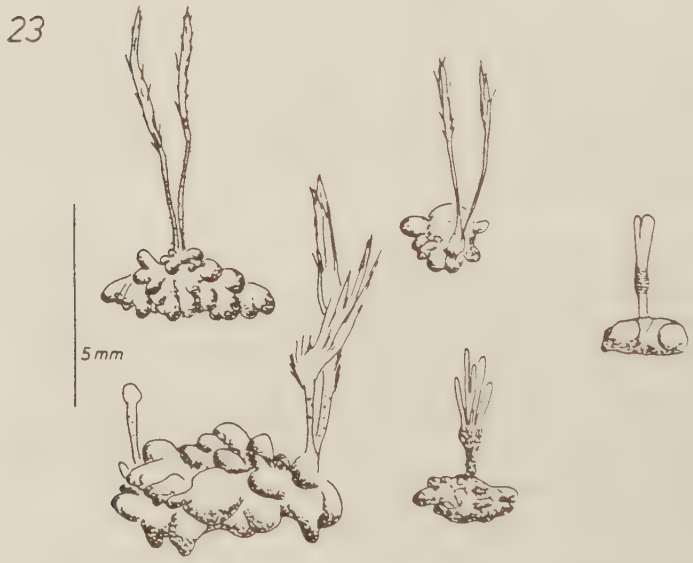


Abb. 23: Fruchtkörperähnliche Strukturen, die aus Sklerotien bei 4 - 6°C unter UV-A-Beleuchtung gewachsen waren. Die Clavula wurde nicht richtig ausdifferenziert, so daß keine Basidien entstanden.

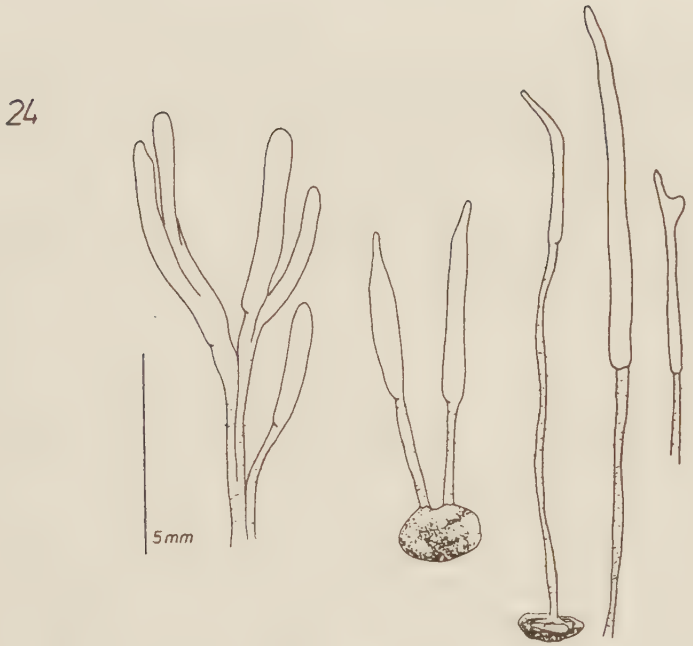


Abb. 24: Fruchtkörper von T. incarnata, die unter natürlichen Bedingunen im Freiland aus Sklerotien gewachsen sind.

Abb. 25: Fruchtkörper auf dem Feld; er wächst scheinbar aus der Erde, da die Ernterückstände samt den Sklerotien in den Boden eingearbeitet worden waren. Meßstrich = 1 cm.

Die im Freiland gesammelten Fruchtkörper (BM 490, 494) wachsen einzeln oder in kleinen Gruppen aus einem Sklerotium aus. Sie sind clavarioid und deutlich in einen weißen Stiel und in eine hell-rosa Clavula mit meist abgerundeter Spitze gegliedert. Die Fruchtkörper sind 6 - 28 mm groß, die Durchschnittsgröße von 10 Exemplaren lag bei 14 mm. Davon nahm die Clavula zwischen 25 und 65 % ein, im Durchschnitt 40 %. Der Stiel ist ca. 0,3 mm dick, die Clavula 0,4 - 0,8 mm.

Der Stiel ist ein Bündel von streng parallel verlaufenden hyalinen Hyphen mit Schnallensepten. An der Peripherie sind sie dichter gepackt als in der Mitte, und sie werden durch eine feine Schleimmatrix zusammengehalten (Abb. 29). Sie haben einen Durchmesser von ca. 3 - 8 µm, und sie sind nicht aufgeblasen. Die Hyphen an der Periperie sind in der Regel schmaler aber dickwandiger als im Inneren des Stiels. Unverzweigte Caulocystiden stehen rechtwinklig von peripheren Hyphen ab, sie haben hyphalen Charakter, sind jedoch unregelmäßig schwach aufgeblasen und zwischen 3 und 30 µm

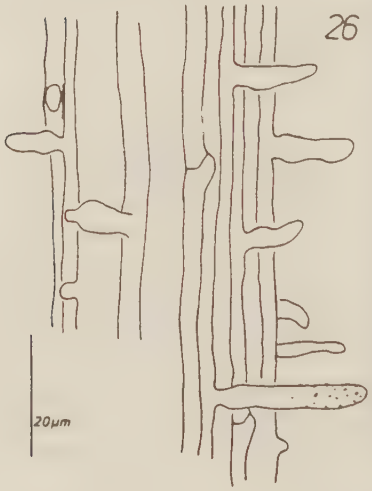


Abb. 26: Periphere Stielhyphen mit Caulocystiden

lang. Sie entstehen interkalar und sind ohne Septen (Abb. 26). Während der Fruktifikation sind bereits alle Stielhyphen stark vakuolisiert und teilweise abgestorben (Abb. 29).

Die Clavula ist innen meist hohl (Abb. 28). Die Tramahyphen verlaufen kontinuierlich parallel als Verlängerung der Stielhyphen. Sie sind langzellig und zum Teil schwach bis zu einer Dicke von etwa 12 µm aufgeblasen. Oft sind sie durch Anastomosen verbunden (Abb. 31).

Die gesamte Clavula einschließlich ihrer Spitze (Abb. 32) ist dicht mit Basidien besetzt, welche terminal auf kurzzellig sich verzweigenden, ca. 3 µm dicken Subhymenialhyphen sitzen. Letztere wiederum wachsen aus den Tramahyphen. Der subhymeniale Bereich ist etwa 10 - 50 µm dick. Die Basidien haben an ihrer Basis Schnallensepten, von denen die subbasidialen Zellen oft weiter proliferieren und daneben oder wenige µm weiter oben eine weitere Basidie ausbilden, so daß stark kondensierte Basidienkandelaber entstehen (Abb. 33, 34).

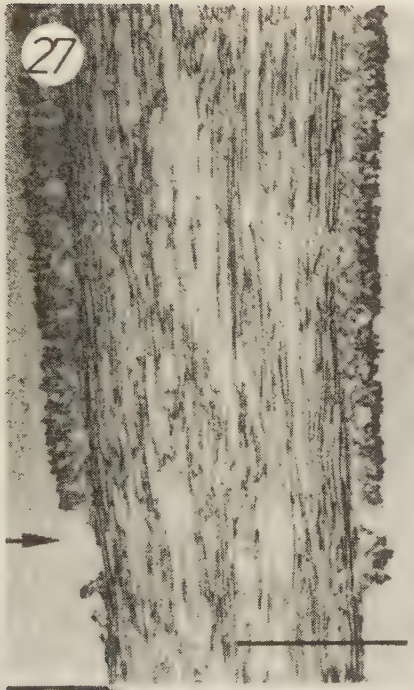
Zwischen den Basidien befinden sich häufig Kristalle mit tetragonalem Umriß, welche sich in 1 n HCl ohne Gasbildung langsam auflösen (Calciumoxalat) (Abb. 34). Sterile zelluläre Elemente (Cystiden) wurden im Hymenium nicht gefunden.

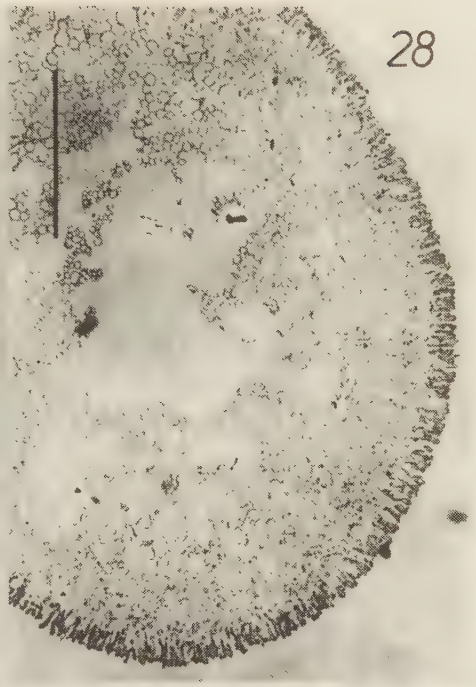
Im Hymenium stehen oft junge, reife und bereits degenerierte Basidien nebeneinander. Junge Basidien sind etwa 3 µm dick, mit zunehmender Länge schwellen sie oben immer mehr an und sehen dann keulenförmig aus, wobei der Apex entweder halbkugelig oder leicht konisch gestaltet ist. Haben die Basidien ihre Endgröße erreicht, werden sie an der Spitze abgeplattet und es entstehen vier kleine höckerförmige Anlagen von Sterigmen, welche zu symmetrisch divergierenden Stiften von ca. 1,5 µm Dicke auswachsen (Abb. 34). Dabei dünnt die äußere Schicht der Basidienwand aus (Abb. 35).

Abb. 27: Semidünnschnitt längs durch einen Fruchtkörper am Übergang vom Stiel zur Clavula (Pfeil). Meßstrich ≙ 200 µm.

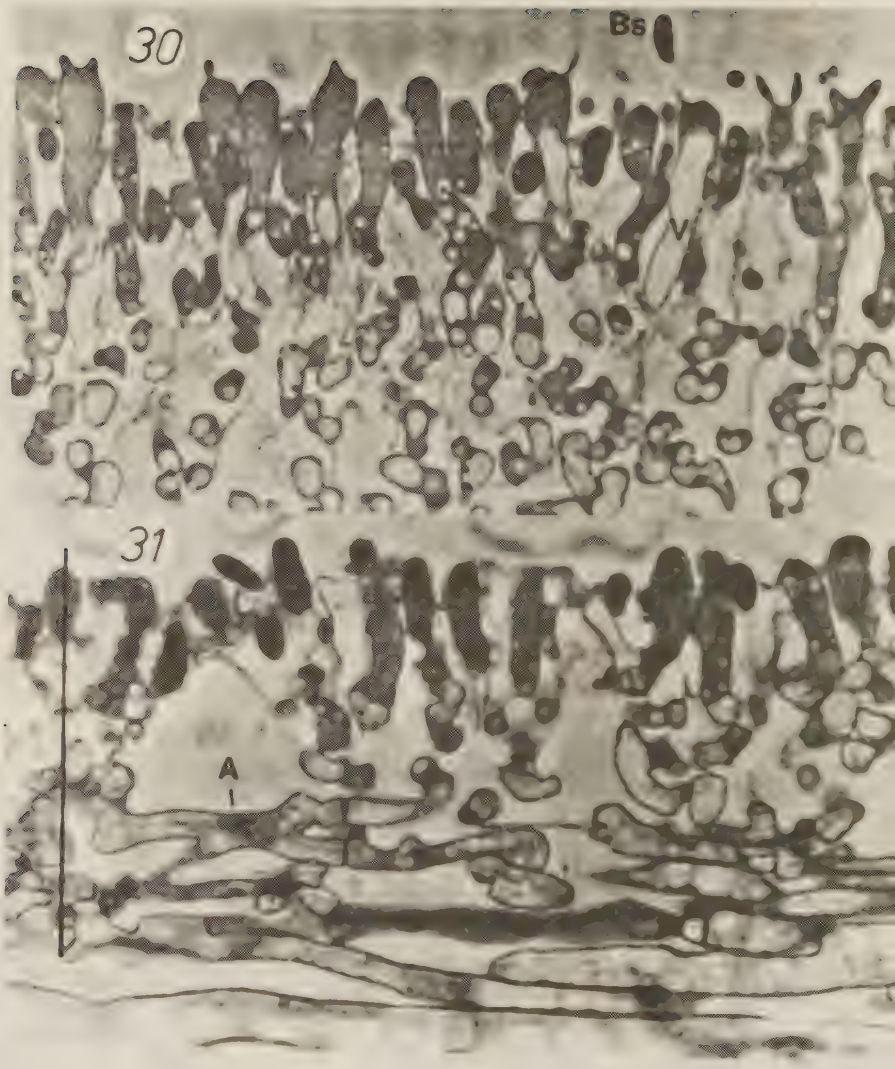
Abb. 28: Semidünnschnitt quer durch die Clavula eines Fruchtkörpers. Gut sichtbar sind die zentrale Höhlung, die teilweise sehr dicken Tramahyphen und das Hymenium am äußeren Rand. Fast das gesamte Plasma des Fruchtkörpers ist hier bereits in den Basidien konzentriert. Meßstrich ≙ 200 µm.

Abb. 29: Querschnitt durch den Randbereich des Stiels. Die äußersten Hyphen sind dickwandiger (große Pfeile). Zwischen den Hyphen befindet sich eine feine Schleimmatrix (kleine Pfeile). Die Zellen sind stark vakuolisiert (V). GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 5 µm.


27


28

29
V
V


30
Bs
31
A

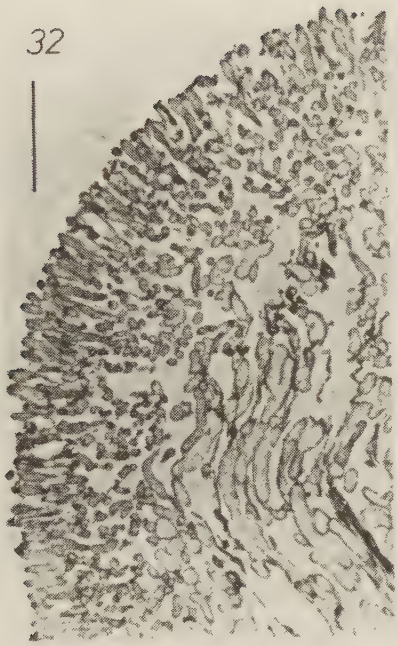
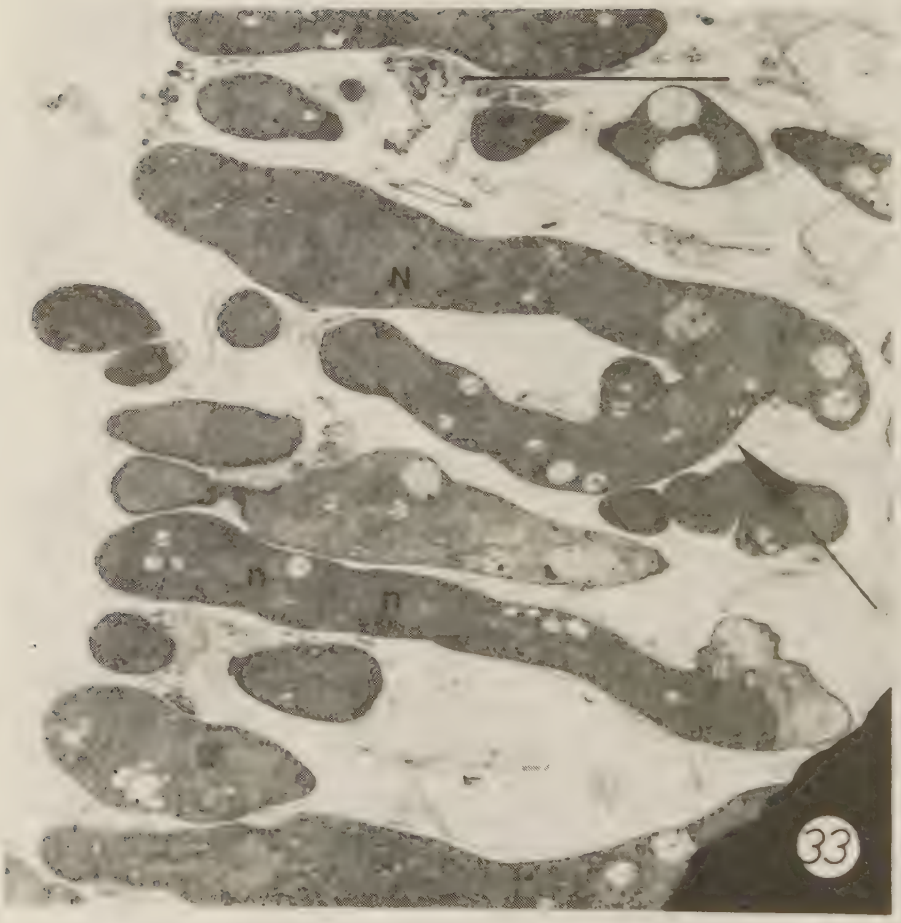


Abb. 32: Längsschnitt durch die Spitze der Clavula, die auch von Basidien besetzt ist (Semidünnschnitt). Meßstrich = 50 µm.

Abb. 30, 31: Semidünnschnitte durch das Hymenium. Meßstrich = 50 µm.

Abb. 30: Hymenium mit ausgeprägtem Subhymenium. V: stark vakuolisierte Basidie kurz vor der Reife der Basidiosporen (davon ist eine sichtbar (Bs)).

Abb. 31: Sehr dünnes Subhymenium zwischen Trama und Basidien; Tramahyphen mit Anastomose (A).


N
n
n
33

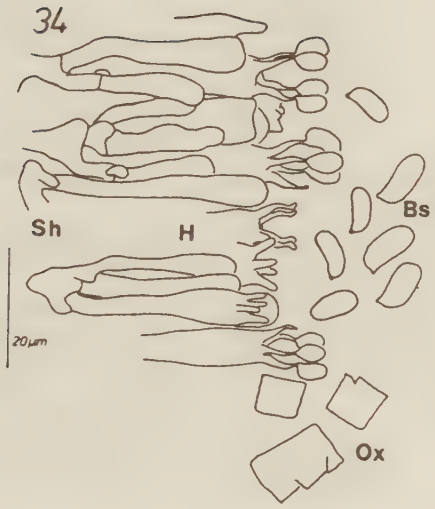
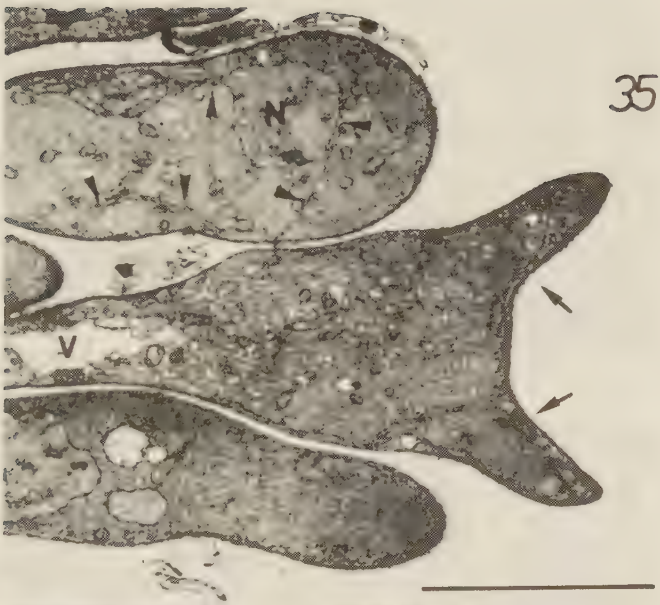


Abb. 34: Basidienentwicklung im Hymenium (H) (aus mehreren Präparaten zusammengesetzt); Basidiosporen (Bs); Oxalatkristalle (Ox); Subhymenium (Sh).

Abb. 33: Junge Basidien zwischen Resten von alten. Proliferation aus einem subbasidialen Schnallenbogen (Pfeil); haploide Kerne vor der Karyogamie (n); diploider Kern (N). GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 10 µm.

Abb. 35: Junge Basidie mit kern- und zellwandnahem ER-System (kleine Pfeile). An den Sterigmen dünnt die Schleimschicht, welche die Basidien umgibt, aus (große Pfeile). GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 5 µm.

Abb. 36: Basidie kurz nach der Meiose. Zwei Kerne sind noch über ihre Hüllen verbunden (Pfeil). Die Basidiosporen, von denen eine sichtbar ist, differenzieren sich aus; basale Vakuole (V).
GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 5 µm.


35
V

36
V
Bs

Abb. 37: Synaptonemaler Komplex (Pfeil) in einem prämeiotischen diploiden Kern.
GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 2 µm.

Abb. 38: Meiotische Teilungsspindel unter dem Basidienapex (A). Die Mikrotubuli sind quer zur Basidienlängsachse orientiert (Pfeile).
GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 2 µm.

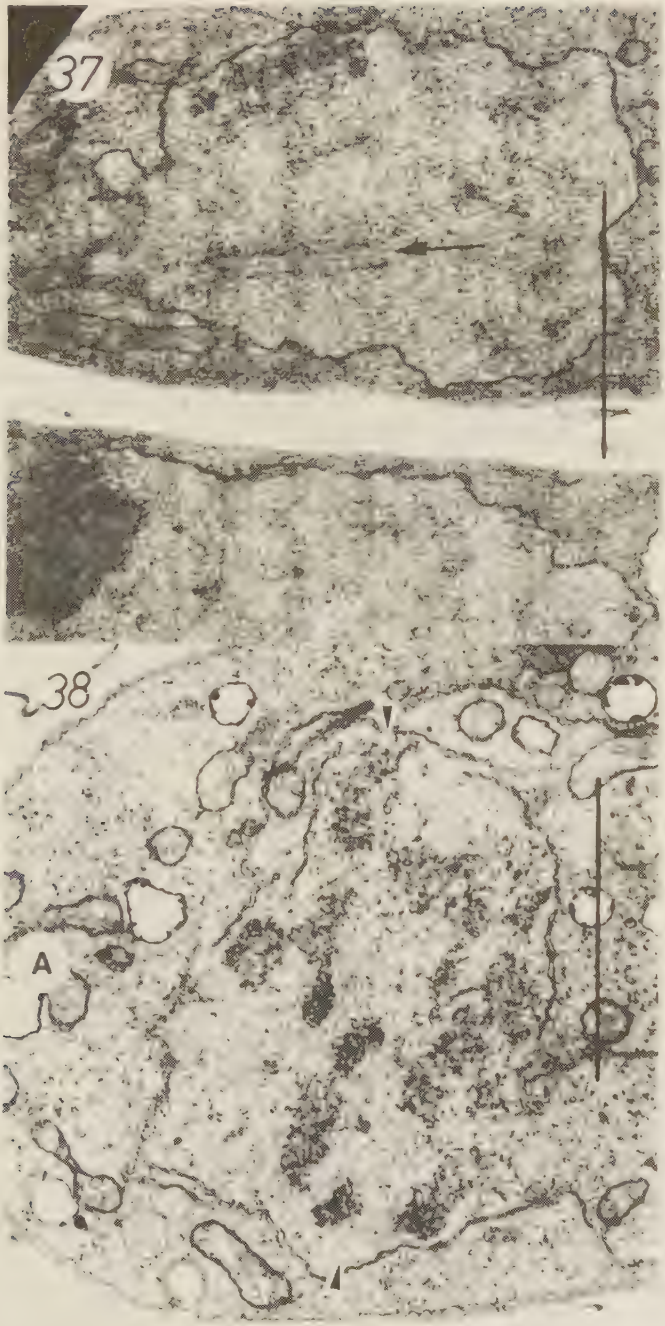

37
38
A

Abb. 39: Meiotischer Zellkern in Basidie. Die Kernhülle ist zum Teil tangential geschnitten, so daß viele Kernporen sichtbar sind.
GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 2 µm.

Abb. 40: Reife Basidiospore mit Apiculus (A). Die Sporenwand ist in vier Schichten gegliedert: 1) grau erscheinende Schicht, deren schleimige Konsistenz sich an der Kontaktstelle mit der benachbarten Spore zeigt. 2) elektronendurchlässige Schicht. 3) grau lamelläre Schicht, die am Apikulus mündet. 4) innerste Schicht, die als einzige das Plasma am Apikulus einschließt; ihre Struktur gleicht der 3. Schicht, sie ist von dieser durch eine sehr feine kontrastreiche Lamelle getrennt.
GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 1 µm.

39
40
1
2
3
4
A

Bei einer Länge von ca. 4 µm sind die Sterigmen schwach nach innen geknickt und verjüngen sich jeweils bis zum ca. 0,5 µm dicken Apiculus, auf dem die Basidiospore entsteht. Sehr vereinzelt wurden auch Basidien mit zwei Sterigmen gefunden.

Die reifen keulenförmigen Basidien sind ohne Sterigmen ca. 25 - 35 (selten bis 42) µm lang, ihr Durchmesser beträgt im oberen Teil etwa 5 - 6 (maximal 8) µm.

In den Basidiosporen sind verschiedene Kernphasen sichtbar: Dikaryophase, diploider Kern (Abb. 33), synaptonemaler Komplex (Abb. 37), Kern im Apex der Basidie mit quergestellter Teilungsspindel (Abb. 38), Vier-Kern-Stadium (Abb. 36).

Während der Entstehung von Sterigmen und Basidiosporen vakuolisiert die Basidie von der Basis her immer mehr, bis sie fast ganz plasmaleer ist. Im jungen Zustand enthalten diese Vakuolen meist Aggregate von stark kontrastierender Substanz (Abb. 30, 33).

Die reifen Basidiosporen sind hyalin, schwach allantoid und ca. 3-5 x 7-12 µm groß. Sie enthalten meist einen Kern (selten zwei) und sind gefüllt mit dicht granulärem Plasma, kleinen Vakuolen (z.T. ebenfalls mit elektronendichter Substanz) und Mitochondrien. Die Zellwand ist etwa 80 nm stark,und man kann im TEM-Bild vier fast gleich dicke Schichten unterscheiden(Abb. 40):
1) Die äußerste Schicht erscheint grau und hat gelegentlich unregelmäßige Protuberanzen, die auf eine schleimige Konsistenz hindeuten.
2) Die zweite ist vollkommen elektronendurchlässig, jedoch am Apiculus, wo sie ausläuft, schwach kontrastierend.
3) Die nächste Schicht ist grau lamellär.
4) Die innerste ist gleicn gebaut wie die dritte Schicht,

von der sie durch eine feine, dunkle Lamelle getrennt ist. Als einzige Schicht schließt sie das Cytoplasma gegen den Apiculus ab.

Der Apiculus ist mit einem schwach kontrastierenden Pfropf gefüllt. Die Sporenwand färbte sich in Melzers Reagens rot.

3.4.2. Diskussion

Die makroskopischen und lichtmikroskopischen Befunde am Fruchtkörper von T. incarnata sind weitgehend im Einklang mit denen von BERTHIER (1976), CORNER (1950) und REMSBERG (1940) (unter T. itoana Imai). Die Diskussion wird deshalb auf EM-Ergebnisse und wenige abweichende Punkte beschränkt.

Die Vakuolisierung der Stielhyphen, welche lückenlos in die Trama der Clavula übergehen, ist wohl als Transportmechanismus anzusehen, welcher nach und nach alles Plasma aus dem Sklerotium über die Stiel-, Trama- und Subhymenialhyphen in die Basidien bringt. Auch die Basidien selbst vakuolisieren während der Ausbildung der Basidiosporen, so daß wohl der größte Teil des Plasmas aus dem Sklerotium letztlich in die Basidiosporen kommt, während die Zellen des Sklerotiums und des Fruchtkörpers am Ende der Sporulation fast vollständig plasmafrei zurückbleiben.

CORNER (1948) umschreibt die Funktion der Vakuole mit "Ampulleneffekt", was bedeutet, daß die Vakuole von der Basidienbasis aus das Cytoplasma in die Basidiosporen treibt und daß eine Korrelation besteht zwischen Basidienvolumen und dem Volumen der vier Basidiosporen. McLAUGHLIN (1982) kritisiert diese Theorie, da sie außer Acht läßt, daß das apikale Wachstum (hier der Sterigmen und Basidiosporen) ein aktiver Prozess, nicht ein bloßes Aufblasen ist; daß

die Organelle in bestimmter Reihenfolge in die Spore einwandern und daß an den Kernen Hinweise auf aktiven Transport gefunden werden können.

Elektronendichtes Material, das häufig in Vakuolen von Basidien vorkommt (Abb. 30, 33) und dessen Natur und Funktion noch nicht nachgewiesen sind (McLAUGHLIN 1982), könnte Polymetaphosphat sein, welches für die Nukleotidsynthese gebraucht wird (vergl. BURNETT 1976, SCURTI et al. 1965).

Daß das Subhymenium in verschiedenen Fruchtkörpern unterschiedlich dick ist, liegt sicherlich daran, daß es durch Basidienübergipfelung proliferiert. In den Abb. 30, 33, 36 sind zwischen und unter Basidien Zellwandreste zu sehen, die wohl von alten Basidien stammen. Da sich jedoch mit der Verdickung des Subhymeniums wegen der zylindrischen Struktur der Clavula auch deren Oberfläche vergrößert und so in einer Schicht mehr Basidien Platz finden, gleichzeitig aber der Nährstoff- bzw. Plasmavorrat aus dem Sklerotium begrenzt ist, sind auch der Subhymenialverdickung Grenzen gesetzt.

REMSBERG (1940) gibt unter dem Synonym T. itoana an, die Basidien hätten basal keine Schnallen. Bei allen hier untersuchten Präparaten jedoch wurden in Übereinstimmung mit BERTHIER (1976) Schnallen an den Basidien gefunden. REMSBERG könnte wegen des sehr dichten Subhymenialsystems die Schnallen übersehen haben.

Aufgrund der quer orientierten Teilungsspindel unter dem Apex der Basidie muß letztere als chiastisch bezeichnet werden (vergl. DONK 1964).

Während der Meiose treten in Zellwandnähe oft große Membransysteme in Sack- oder Stapelform auf (Abb. 35), wie auch in den Basidien anderer Basidiomyceten (BECKET et al. 1974,

LERBS 1971, THIELKE 1974, WELLS 1964, 1965). THIELKE vermutet, daß sie bei der Volumenverminderung der Kerne während den meiotischen Teilungen entstehen, da sie mit den Kernhüllen oft noch in Verbindung stehen. Bei Coprinus scheinen sich die Membranen zum Teil vesikulär oder tubulär anzuordnen, bei Tricholoma-Arten (KOST 1981) sind sie dagegen oft als zusätzliche konzentrische Hüllen um die Kerne anzutreffen. Es sollte untersucht werden, ob diese differenzierten Faltungsmuster konstant auftreten.

Die Wanddifferenzierung der Basidiosporen in Form von Färbung, Ornamentation und Reaktionsfähigkeit mit Reagentien (bes. Amyloidie) ist ein wichtiges Merkmal zur Identifikation und zur systematischen Gliederung der Homobasidiomyceten (z.B. DONK 1964, MOSER 1983, OBERWINKLER 1977). Es lag nahe, sich mit dem Aufbau der Sporenwand auch in EM-Studien zu befassen um weitere Differenzierungen und systematische Zusammenhänge zu erfassen (z.B. KÜHNER 1973, CLEMENÇON 1977, KELLER 1974). Meines Wissens wurden jedoch bisher keine weißsporigen clavarioiden Pilze untersucht.

T. incarnata zeigt im Feinbau der Sporenwand die weitgehendste Übereinstimmung mit Tricholoma-Arten, die KOST (1981) untersucht hat. Zwei weitere Tricholomataceen (Mycena radicatella und Collybia spec.) sind nach CLEMENÇON (1970) ebenfalls sehr ähnlich; kleine Kontrastunterschiede lassen sich möglicherweise hier auf das ungewöhnliche Fixans Lithiumpermanganat zurückführen. Zwar kommen schleimartige Auflagerungen in vielen Verwandtschaftskreisen vor, jedoch bestärken die festgestellten Übereinstimmungen in der gesamten Schichtung die These OBERWINKLERS (1979) von der möglichen phylogenetischen Beziehung zwischen der Gattung Typhula und der Tricholomatacee Collybia. In diesem Zusammenhang ist auch erwähnenswert, daß es sowohl bei

Typhula als auch unter den Tricholomataceen vereinzelte Vertreter mit amyloiden Sporen gibt (BERTHIER 1976, MOSER 1983), was ebenfalls auf sehr ähnliche Wandverhältnisse bei diesen beiden Taxa deutet. Für T. incarnata gibt BERTHIER eine "sehr schwache" Sporenamyloidie an, die ich aber nicht im Sinne einer Blaufärbung mit Melzers Reagens reproduzieren konnte.

Wie sich hier wiederum gezeigt hat, haben auch glattwandige, hyaline Sporen von Homobasidiomyceten im Gegensatz zu den Heterobasidiomyceten eine spezifisch geschichtete Zellwand, die mit der Überlebensfähigkeit der Spore in Verbindung stehen könnte. Die Basidiosporen von T. incarnata können nach LEHMANN (1965a) bei Temperaturen von -10 bis -15°C mindestens vier Monate überleben. Unter natürlichen Voraussetzungen bedeutet dies, daß Sporen, die Ende November mit dem Wind verbreitet werden, noch im Frühjahr durch den Winter geschwächte Wirtspflanzen infizieren können (vergl. 3.7.).

3.5. Bedingungen der Konidiogenese

Nach etwa vier Wochen haben die Einspormycelien bei 10°C in Dauerlicht eine Petrischale mit MYP-Agar überwachsen. Am Rand der Platte heben sich dann oft sterile Hyphenbündel von bis zu ca. 10 mm Länge oder kleine Hyphenbüschel von ca. 1 - 2 mm Länge vom Substrat ab.

Ohne die Wirkung von UV-A-Licht wurden bei 10°C und bei 4°C auch bei weiterer mehrwöchiger Incubation nur sehr vereinzelt Konidien gebildet. Aber auf älteren Platten, die bei 4°C acht Stunden pro Tag mit UV-A-Licht bestrahlt wurden, setzte meist nach einigen Tagen starke Konidienbildung ein. Makroskopisch wurden dann schleimige, hyaline Konidienklümpchen auf den oben genannten Hyphenaggregaten sichtbar (Abb. 41). In manchen Kulturen fanden sich auch im Substrat konidiogene Hyphenbüschel.

Nicht alle haploiden Stämme konnten jedoch zur Konidienbildung gebracht werden. Auch kann sich das Sporulationsverhalten eines Stammes im Lauf der Zeit ändern. Dies hat auch BERTHIER (pers. Mitteilung) bei anderen Typhula-Arten beobachtet, der seine Kulturen ohne UV-Beleuchtung heranzog.

Der bisher einzige Bericht über Konidien bei T. incarnata stammt von REMSBERG (1940). Sie beschreibt "microconidia .... arising from lateral branches on old mycelium". Es ist nicht ersichtlich, ob ihre Kulturen UV-haltiger Bestrahlung (etwa Tageslicht) ausgesetzt waren.

UV-A-Beleuchtung kann bei vielen Pilzen die Sporulation induzieren oder begünstigen. Eine Literaturübersicht darüber und über vielfältige weitere Sporulationsfaktoren gibt MÜLLER (1979).

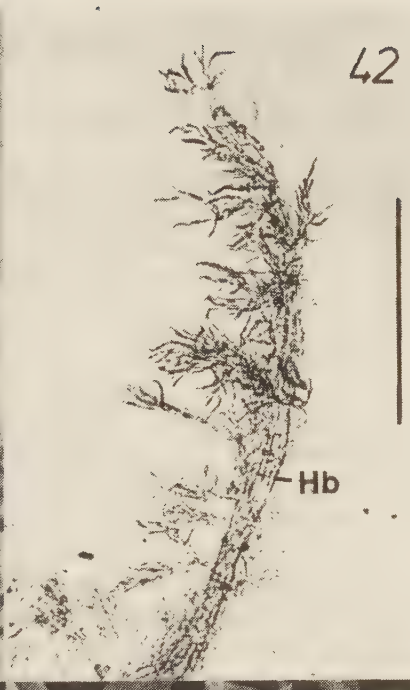
Abb. 41: Einige haploiden Stämme bilden auf dem Substrat Hyphenbündel (Hb), von denen einzelne Hyphen abgehen, die sich zu einem System von konidiogenen Zellen verzweigen (Konidiophor, Kp). Die klebrigen Konidien bilden an den Konidiophoren tröpfchenförmige Aggregate.
LM-Aufsicht in Luft. Meßstrich ≙ 200 µm.

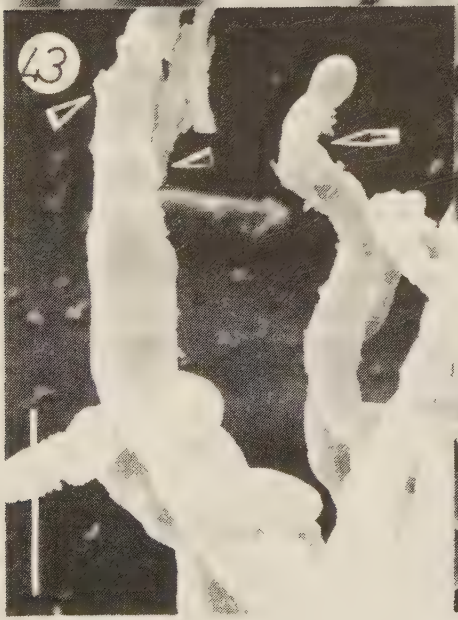
Abb. 42: Hyphenbündel (Hb) (wie Abb. 41) mit sich spreitenden Konidiophoren in einem üblichen Objektträgerpräparat in Wasser. Meßstrich ≙ 200 µm.

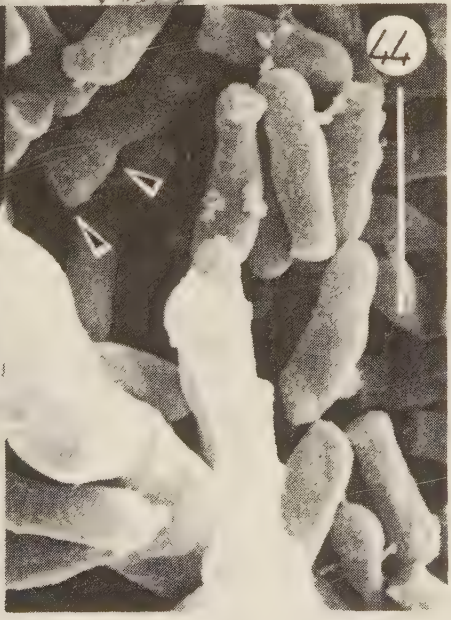
Abb. 43: Zwei konidiogene Zellen. Die linke hat seitliche Narben, die auf eine sympodiale Entstehung der Konidien deuten (kleine Pfeile). Die rechte zeigt schwache Annelliden-Strukturen (großer Pfeil). REM; Meßstrich ≙ 4 µm.

Abb. 44: Reife Konidien; meist mit runder Spitze und abgeplatteter Basis . Eine Konidie hat basal eine Manschette, wie sie bei retrogressiver Sporenbildung auftritt.
REM; Meßstrich ≙ 4 µm.

41
Kp
Hb


42
Hb


43


44

3.6. Konidiophor und Konidiogenese

3.6.1. Ergebnisse lichtmikroskopischer Untersuchungen

Von unterschiedlich großen Hyphenbündeln gehen einzelne Hyphen von ca. 3,5 µm Durchmesser ab, die sich zu kandelaberartigen Systemen mit vielen konidiogenen Zellen verzweigen. In der Aufsicht erscheinen diese Konidienträger (=Konidiophore) durch die daranklebenden Konidien als kleine Tröpfchen (Abb. 41).

Die Verzweigungen in diesen Kandelabern gehen einzeln oder paarweise meist kurz unterhalb eines Septums ab. (Abb. 45). Die konidiogenen Zellen sind von normalen Hyphenzellen nur wenig verschieden; sie können interkalar oder terminal angeordnet sein und sind etwa 15 bis 100 µm lang. Ihre wesentliche Differenzierung besteht in einem ca. 1 - 2 µm dünnen konidiogenen Fortsatz am apikalen Ende der Zelle. Dieser kann bis zu 10 µm lang werden und ist oft unregelmäßig gebogen (Abb. 43, 46, 56). An einem vier Tage alten Mycel, das aus einer großen Menge von Basidiosporen entstand und insgesamt nur sehr wenig Konidien bildete, fanden sich ungewöhnlicherweise zwei Zellen mit je einem apikalen und einem basalen konidiogenen Fortsatz (Abb. 47).

Die Konidien entstehen sukzessive an der Spitze des konidiogenen Fortsatzes und bleiben offensichtlich wegen ihrer schleimigen Zellwand neben ihrem Entstehungsort hängen. Besonders viele Konidien wurden an langen Fortsätzen gefunden (Abb. 46). Die Konidien sind hyalin, einzellig, von zylindrischer Form und 1 - 1,5 x 3 - 5 µm Größe. Oben sind sie abgerundet, unten eher abgestutzt.

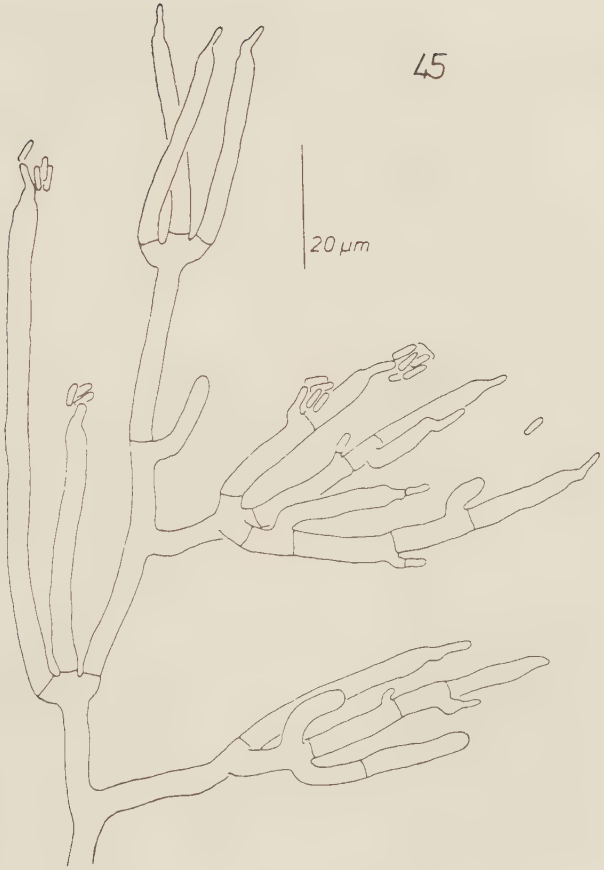


Abb. 45: Typischer Konidienträger mit terminalen und interkalaren sporogenen Zellen. Die sporogenen Fortsätze sind noch relativ kurz, es sind erst wenige Konidien gebildet.

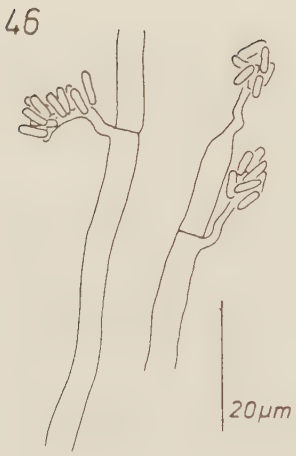


Abb. 46: Zellen mit sehr langen sporogenen Fortsätzen. Entsprechend groß ist die Zahl der bereits abgegliederten Konidien.

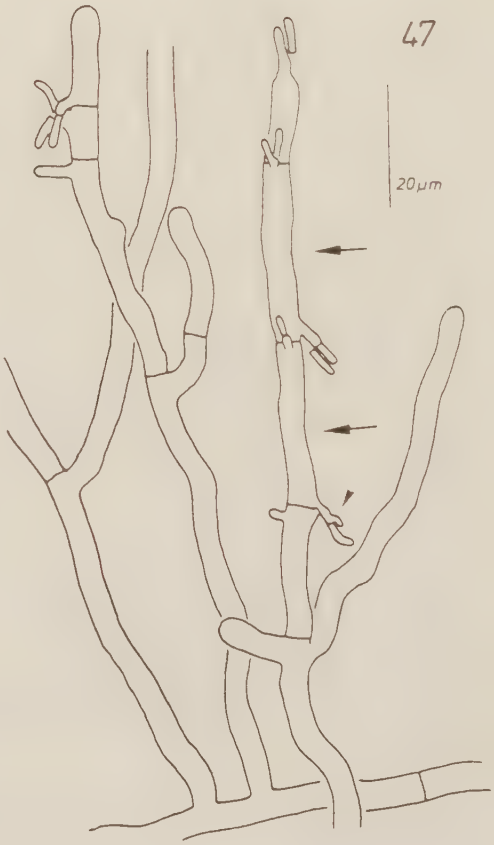


Abb. 47: Konidiophore in einer vier Tage alten Kultur aus vielen Basidiosporen. Sehr ungewöhnlich sind hier zwei Zellen mit je zwei konidiogenen Fortsätzen (große Pfeile). Kleiner Pfeil: nur hier beobachtete subkonidiale Proliferation (sympodialer Typ).

3.6.2. Ergebnisse elektronenmikroskopischer Untersuchungen

Auffallend ist die Differenzierung des Plasmas von Konidiophorzellen in einen peripheren Bereich mit grober Körnung und mit einzelnen Vakuolen und in einen fein granulär bis amorph erscheinenden zentralen Bereich. Letzterer verläuft kanalartig längs durch die ganze Zelle und setzt sich über die Doliporen in der nächsten Zelle fort (Abb. 48, 50). Kern und Mitochondrien befinden sich im zentralen Bereich, der in seiner ganzen Länge von endoplasmatischem Reticulum durchzogen sein kann.

Wo der konidiogene Fortsatz an einer terminalen Zelle inseriert, geht die äußere Wandschicht in eine stärker elektronendurchlässige, locker strukturierte Schleimschicht über (Abb. 49). Bei interkalaren sporogenen Zellen hört die äußere Wandschicht mehr oder weniger abrupt auf und bildet so einen Kragen um die Basis des Fortsatzes (Abb. 55).

Der konidiogene Fortsatz hat eine 30 nm dicke Zellwand mit einer etwa doppelt so dicken Schleimauflagerung, welche auch an den Konidien sichtbar ist (Abb. 53). Einige Fortsätze weisen nach vorne gerichtete Kragenstrukturen auf, die leicht verschleimen und oft nur einseitig zu sehen sind (Abb. 56, 57). Die entsprechende Ringelung kann deshalb im REM-Bild nur undeutlich erkannt werden. Manchmal sind auch einseitige Narbenstrukturen sichtbar (Abb. 43).

Die Wand einer Konidieninitiale geht kontinuierlich aus den inneren Wandschichten des konidiogenen Fortsatzes hervor (Abb. 53, 54, 55). Ein Septum trennt die Konidie vom Plasma der Mutterzelle ab, wenn alle Zellorganelle enthalten sind (Abb. 52). Dieses Septum spaltet sich an der Mittellamelle, seine obere Hälfte wird zur Basalplatte der Konidie, die untere wird zur Spitze der nächsten Konidieninitiale (Abb. 49, 53, 54). Die perikline Wand wird auf der

Höhe der Mittellamelle abgetrennt und bildet am konidiogenen Fortsatz einen meist nur schwach ausgeprägten Kragen und an der Konidie einen basalen Saum (Abb. 49, 55).

Das Wachstum der nachfolgenden Konidieninitiale erfolgt entweder symmetrisch (Abb. 49, 53), die vorige Konidie von ihrem Kragen abhebend, oder asymmetrisch, sie mehr zur Seite drängend und Teile der periklinen Wand des Fortsatzes in den Wachstumsprozeß einbeziehend (Abb. 54, 57). Im Plasma unter der Spitze von wachsenden Konidieninitialen sind oft kleine Membranvesikel von ca. 50 nm Durchmesser mit elektronendurchlässigem Inhalt zu sehen (Abb. 49, 51, 53, 54, 57).

Ein wesentlicher Teil des Konidienvolumens wird durch den Kern eingenommen, dessen Chromatin stark kondensiert ist. Neben dichtem Plasma sind noch ein bis zwei Mitochondrien sowie einige Lipidtröpfchen und kleine Vakuolen enthalten (z.B. Abb. 49, 53, 57).

Abb. 48: Konidiogene Zelle mit fein granulärem zentralem Plasma (zP), welches sich über den Doliporus zur benachbarten Zelle fortsetzt. Eine Konidieninitiale kurz vor der Septenbildung (Pfeil), der Kern ist bereits eingewandert. GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 5 µm.

Abb. 49: Abtrennung der wahrscheinlich ersten Konidie von einer terminalen konidiogenen Zelle. Großer Pfeil: Ansatz des konidiogenen Fortsatzes, Beginn der Wandverschleimung. Kleine Pfeile: basaler Saum der Konidie.
GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 2 µm.

Abb. 50: Zelle innerhalb eines Konidiophors; das zentrale fein-granuläre Plasma ist in Längsrichtung von ER durchzogen.
GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 2 µm.

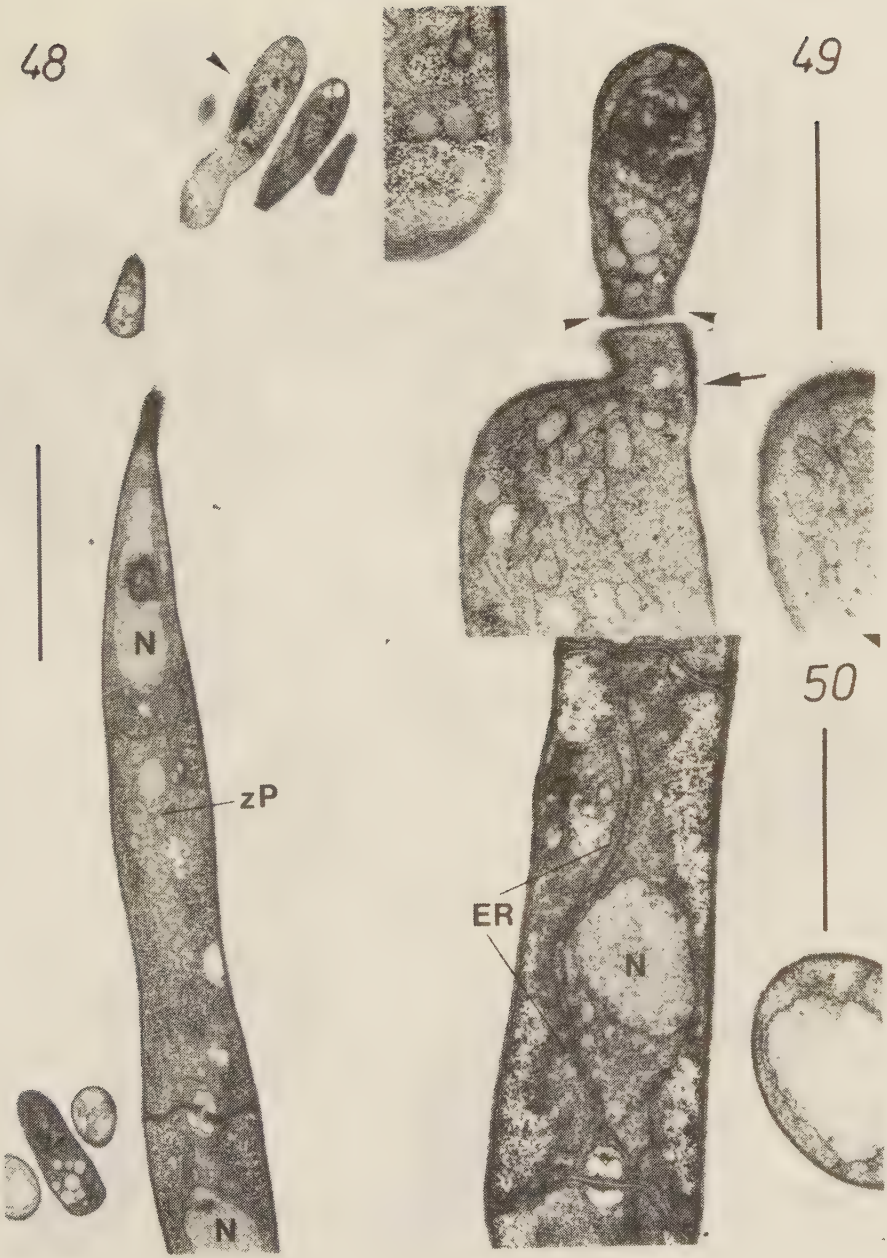

48
49
50
N
zP
N
ER
N

Abb. 51: Wachsende Konidieninitiale mit kleinen Vesikeln im Apex (Spitzenkörper); hier ist die Schleimschicht auf der Zellwand deutlich sichtbar (Pfeil).
GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 2 µm.

Abb. 52: Terminale konidiogene Zelle; eine fertige Konidie (schräg geschnitten) sitzt noch auf dem konidiogenen Fortsatz, die Zellwände sind noch kontinuierlich, das Septum noch nicht gespalten (Pfeil).
GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 5 µm.

Abb. 53: Eine junge Konidieninitiale schiebt eine fertige Konidie nach oben weg. Pfeile: Schleimschicht auf der Konidie.
GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 2 µm.

Abb. 54: Apex einer jungen Konidieninitiale mit Spitzenkörper beginnt asymmetrisch an der vorhergehenden Konidie vorbeizuwachsen (Pfeil).
GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 1 µm.

51
52
N
53
54

Abb. 55: Seitlicher konidiogener Auswuchs einer interkalaren Zelle. Aufbruch der äußeren Zellwandschicht an der Insertionsstelle (große Pfeile). Basaler Saum der Konidie und entsprechende Kragenstruktur am konidiogenen Fortsatz (kleine Pfeile); Einwanderung des Kerns (N) in die Konidieninitiale; L: Lipidtropfen.
GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 2 µm.

Abb. 56: Seitlicher konidiogener Auswuchs mit Kragenstrukturen (Pfeile), umgeben von Konidien.
GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 2 µm.

55
L
N
56
N

Abb. 57: Konidiogene Zelle, deren Fortsatz sich schon stark verlängert hat, was an deren Kragenstrukturen ersichtlich ist (Pfeile). Eine neue Konidieninitiale mit Spitzenkörper (großer Pfeil) schiebt die vorhergehende Konidie zur Seite weg. GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 2 µm.

Abb. 58: Gleiche konidiogene Zelle wie Abb. 57 (Serienschnitt) mit Kern (N).
GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 5 µm.

57
N
L
N
58
N

3.6.3. Diskussion

Durch die Anordnung von komplexen Konidiophoren auf Hyphenbündeln kann das haploide Mycel von T. incarnata eine sehr große Menge von Konidien auf engem Raum produzieren, um so mehr, als die konidiogenen Zellen viele Konidien hintereinander hervorbringen können.

Die Differenzierung des Plasmas von Konidiophor-Zellen in einen grob-granulär erscheinenden peripheren und in einen neben den Zellorganellen fein-granulär bis amorph erscheinenden zentralen Bereich, der sich durch die Doliporen von Zelle zu Zelle erstreckt, muß im Zusammenhang mit dem Stofftransport zu den konidiogenen Zellen bzw. Loci gesehen werden. Durch die Abgliederung der zahlreichen Konidien haben sie einen großen Bedarf an Ausgangssubstanzen für die Vermehrung von Zellbestandteilen, sowie an energieliefernden Verbindungen dazu. Da die Konidiophoren oft vom Substrat abgehoben sind, müssen alle diese Substanzen durch die basalen Zellen durchgeschleust werden, wodurch sicherlich ein starker Plasmastrom entsteht. Es ist zu vermuten, daß ein von Porus zu Porus längs durch die ganze Zelle verlaufendes ER wie in Abb. 50 die Aufgabe hat, den Durchfluß zu kanalisieren und vom übrigen Zellstoffwechsel abzuschirmen.

Zur Konidiogenese:
Wenn eine interkalare Zelle an ihrem distalen Ende Konidien zu bilden beginnt, wird zuerst die primäre Zellwand durch die auswachsende Konidieninitiale gesprengt und bildet dann einen Kragen (Abb. 55). Eine apikale Zelle kann eine Konidieninitiale bzw. einen konidiogenen Fortsatz ohne Kragenbildung hervorbringen, da die Zellwand im Spitzenbereich noch dünn und dehnbar ist, wenn zuvor kein Wachstumsstop eingetreten ist (Abb. 49, 59). Im ersten Fall müßte die Konidiogenese als enteroblastisch, im zweiten als holo-

blastisch klassifiziert werden. Letzteres ist für Basidiomyceten sehr ungewöhnlich (HONOLD 1982, KREGER-VAN RIJ et al. 1971). Literatur, die WATLING (1979) zu den solitären "holoblastischen" Konidien der Agaricales zitiert, beruht ausschließlich auf lichtmikroskopischen Untersuchungen und kann deshalb noch nicht abschließend beurteilt werden.

MADELIN (1979) stellte die Hypothese auf, daß die Art der blastischen Ontogenie von der Juvenilität der Zellwand am konidiogenen Locus abhänge:

> "If the wall is juvenile, it retains its capacity to be plasticized and have new materials intussuscepted, so that all of it can be involved in generation of the conidial initial. If, on the other hand, it has been omitted from the developmental process for some time, it may undergo maturation changes and become no longer plasticizable, in which case new development at that locus is possible only when the mature parts of the wall are split or lysed (or both) to allow the egress of a juvenile layer from below."

Dies könnte den Unterschied bedingen zwischen dem konidiogenen Locus einer intercalaren und einer terminalen Zelle. Während letzterer aus der wachsenden, also juvenilen Apikalkuppel hervorgehen kann, muß ersterer ältere Zellwandschichten überwinden.

Der Vergleich der Pyknosporogenese der Rostpilze Puccinia sorghi (RIJKENBERG et al. 1974), P. coronata (HARDER et al. 1978) mit holoblastischem und Gymnosporangium fuscum mit enteroblastischem Modus (METZLER 1981) stützt MADELINS Hypothese; mit großer Sicherheit ist nämlich anzunehmen, daß bei diesen nah verwandten Arten die Sporogenese auf einem homologen Mechanismus beruht, insbesondere weil auch die übrige Morphologie der konidiogenen Strukturen übereinstimmt.

Nachdem neben dem Zellkern, der aus einer mitotischen Teilung des Kerns der konidiogenen Zelle hervorgeht, die übrigen essentiellen Zellbestandteile in die Konidieninitiale eingewandert sind, wird sie zur fertigen Konidie, indem sie durch ein Septum von der Mutterzelle etwas außerhalb der ursprünglichen Zellgrenze abgetrennt wird (Abb. 52, Schema-Abb. 59 D, F, H). Die perikline Zellwand der Sporeninitiale reißt auf der Höhe der Mittellamelle des Septums ab und bildet an der jungen Konidie einen basalen Saum und am nun entstandenen, noch kurzen konidiogenen Auswuchs einen mehr oder weniger deutlichen Kragen. Der obere Teil des Septums wird die Basalplatte der jungen Konidie, der untere wird zur Spitze der nachfolgenden Sporeninitiale, welche die erste Konidie wegschiebt. Der damit verbundene Wachstumsvorgang wird deutlich durch die Vesikel des Spitzenkörpers (GIRBARDT 1969).

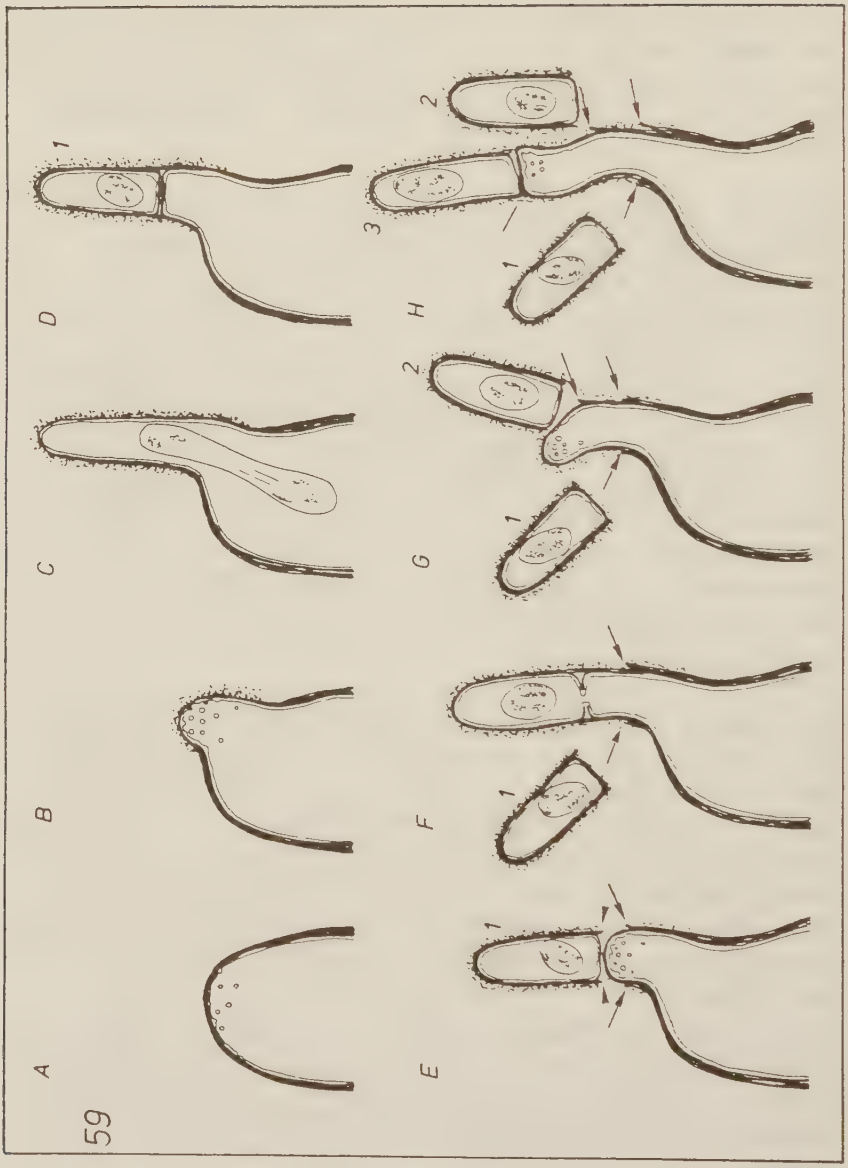
Die nächste Konidie wird durch ein Septum wieder etwas außerhalb vom letzten Kragen abgetrennt, so daß der konidiogene Fortsatz etwas länger wird. Die Proliferation durch den Kragen der vorhergehenden Konidie, wobei diese zwangsläufig weggeschoben wird, und die Verlängerung der konidiogenen Zelle mit jeder Konidienbildung ist als annellidischer Mechanismus definiert (KENDRICK 1971). Begriffliche Schwierigkeiten macht die Kopplung des Begriffs "annellidisch" mit der holoblastischen Entstehung der ersten Spore (vergl. HARDER et al. 1978, MINTER et al. 1982, siehe unten). Diese Begriffskopplung sollte aufgegeben werden, da sie den natürlichen Verhältnissen nicht immer gerecht wird.

In vielen Fällen proliferiert der konidiogene Fortsatz leicht asymmetrisch und bezieht Teile der periklinen Wand in den Wachstumsprozeß mit ein, so daß an dieser Stelle die Ringelung der Zellwand nicht vollständig erhalten bleibt, sondern daß zum Teil einseitige Narbenstrukturen entstehen (Abb. 43).

Wenn die Proliferation seitlich, ohne Abschieben der vorher gebildeten Konidie erfolgt - was nur in einem Fall beobachtet wurde (Abb. 47) -, so ist die Definition für "sympodiale Proliferation" erfüllt (vergl. COLE et al. 1979, KENDRICK 1971).

BERTHIER (1976) veröffentlichte detailliete lichtmikroskopische Untersuchungen zur Konidiogenese von mehreren Typhula-Arten. Er fand zwei Konidiogenese-Typen: sympodiale und annellidische. Nach seinen Abbildungen zur annellidischen Sporenbildung sind im Aufbau des Konidiophors und in der Art der Konidien ein Stadium von T. micans, eine Species aus der Setipes-Gruppe, Macrotyphula fistulosa und M. tremula mit T. incarnata vergleichbar. Die Annellierung stellt BERTHIER hier punktiert dar, was auf schleimige Zellwände auch hier hindeutet. Bei den beiden Macrotyphula-Arten zeigt er je eine Konidie mit basaler Manschette, was selten auch bei T. incarnata zu finden ist (Abb. 44). Diese Manschette entsteht bei retrogressiver Sporenbildung (vergl. COLE et al. 1979).

Den Arten T. quisquilaris (subgen. Pistillaria), T. trifolii und T. athyrii (subgen. Microtyphula). T. culmigena und T. uncialis (subgen. Gliocoryne), T. lutescens (subgen. Cnazonaria) und einem Stadium der polymorphen T. micans schreibt BERTHIER die sympodiale Konidiogenese zu. T. micans zeigt die diagnostizierte Konidiogenese am deutlichsten: Unter einer terminal noch sitzenden Konidie wächst seitlich die neue Konidieninitiale heraus. Die Darstellungen der übrigen Arten, insbesondere von T. quisquilaris, T. trifolii und T. uncialis, erinnern ebenfalls an die Konidiogenesestrukturen von T. incarnata. Es sind unterschiedlich lange konidiogene Fortsätze ausgebildet, die aber nach den Angaben des Autors während der Konidiogenese nicht länger werden.



59

Abb. 59: Schematische Darstellung der Konidiogenese bei Typhula incarnata (hier an einer terminalen Zelle).

A Wachsende Hyphenspitze mit Spitzenkörper

B Holoblastisches Auswachsen einer Konidieninitiale mit verschleimender Zellwand

C Vergrößerung der Initiale und Teilung des Zellkerns

D Die 1. Konidie ist nach der Septenbildung ausdifferenziert. Der untere Teil der ursprünglichen Konidieninitiale bildet jetzt einen kurzen konidiogenen Fortsatz

E Ablösung der 1. Konidie durch das Wachstum der nächsten Initiale (mit Spitzenkörper). Die vorher durchgehende perikline Wand bildet jetzt am konidiogenen Fortsatz einen winzigen Kragen (große Pfeile) und an der Konidie einen basalen Saum (kleine Pfeile).

F Bildung der zweiten Konidie

G Die 2. Konidie wird abgeschoben. Durch das asymmetrische Auswachsen der dritten Konidieninitiale wird der linke Teil der periklinen Wand in das Wachstum mit einbezogen und verliert seine Kragenstruktur.

H Abschiebung der 3. Konidie, an der rechten Seite beginnend. Der konidiogene Fortsatz ist länger geworden.

Die Untersuchungen BERTHIERS und die vorliegende Arbeit an T. incarnata zeigen, daß der morphologische und funktionelle Unterschied zwischen dem annellidischen und dem sympodialen Konidiogenese-Mechanismus sehr gering sein kann.

MADELINS Hypothese, daß die Art der Konidiogenese von der Juvenilität der Zellwand abhängen kann, erstreckt sich auch auf die Alternative zwischen "Konidiogenese in basipetalen Ketten" und "sympodialer Proliferation". Für die Bildung einer basipetalen Kette von Konidien muß nämlich der untere Teil des Konidialseptums plastischer, bzw. durch die Ablösung der letzten Konidie leichter "aufblasbar" sein als die seitliche, perikline Wand unterhalb des Konidialseptums.

Der Weg des geringsten Widerstandes kann für die Konidieninitiale im Fall von T. incarnata auch zwischen den genannten Alternativen liegen, nämlich im seitlichen Auswachsen an einer Stelle, wo Konidialseptum und perikline Wand zusammenstoßen. Es vereinigen sich hier die Vorteile des naturgemäß dünnen juvenilen Halbseptums und das nur schrittweise notwendige Abreißen der periklinen Wand durch das seitliche Wegschieben der fertigen Konidie (vergl. Schema-Abb. 59 H). Bei einer typischen Annellide oder Phialide wird die perikline Wand im ganzen Umfang gleichzeitig abgetrennt, wozu sicherlich größerer Druck von der Basis her notwendig ist. Die ungewöhnliche Zwischenform der Konidiogenese wird begünstigt durch die geringe Dicke der periklinen Zellwand und deren schleimige Konsistenz.

Unter Basidiomyceten ist annellidische Konidiogenese nur aus den Gattungen Typhula (incl. Pistillaria) und Macrotyphula bekannt (BERTHIER 1976, KOSKE et al. 1971). Außerdem kann wohl die Hefekeimung bei Ustilago hordei nach Abbildungen in SCHMITTER(1984) als annellidisch bezeichnet werden. Dagegen gibt es eine sehr große Vielfalt an sympodial entstehenden Konidien (vergl. KENDRICK & WATLING 1979).

Eine ganze Anzahl von Arten muß noch feinstrukturell untersucht werden, da aus den vorliegenden lichtmikroskopischen Arbeiten eine annellidische oder intermediär annellidisch-sympodiale Genese nicht ausgeschlossen werden kann.

Ascomyceten weisen eine sehr große Vielfalt von Konidiogenesemustern auf. In jüngerer Zeit wurden hier Beispiele für den homologen Zusammenhang zwischen annellidischer und sympodialer Konidiogenese gefunden: Innerhalb einer Art der Gattungen Diatrype, Diatrypella und Eutypa (Diatrypaceae) können sowohl annellidisch als auch sympodial gebildete Konidien entstehen (GLAWE 1983, GLAWE et al. 1982 a, b).

> "The occurence of both sympodially and percurrently proliferating conidiogenous cells in a number of species of Diatrypaceae suggests, that these modes of conidiogenesis are neither very distinct nor invariable in these fungi."
>
> GLAWE & ROGERS (1982 b)

Die bekannten Konidiengenerationen des Apfel- und des Birnenschorfes könnten ebenfalls auf einen homologen Zusammenhang untereinander deuten: Venturia inaequalis hat eine annellidische Nebenfruchtform, V. pirina hat Sympodulokonidien. Die infolge Melanisierung starren Zellwände lassen wohl keine Variation innerhalb einer Art zu, es ist aber anzunehmen, daß die spezifischen Formen sich aus einem gemeinsamen Muster evolviert haben.

Von MINTER et al. (1982) werden zwei Beispiele angeführt, die eine Zwischenstufe der holoblastisch-sympodialen und der annellidischen Konidiogenese zeigen sollen:
a) Pseudospiropes saskatchewanensis Sutton: Die Autoren verweisen darauf, daß die sympodiale Proliferation seitlich

unterhalb der vorhergehenden Konidie sowohl holoblastisch als auch enteroblastisch wachsen kann. In beiden Fällen wird das untere Halbseptum mit dem hier offensichtlich melanisierten Kragen nicht in den Wachstumsprozeß einbezogen, so daß eine klare, seitliche Narbe zurückbleibt.

b) Pleiochaeta setosa (Kirchn.) Hughes: MINTER et al. beziehen sich auf HARVEY (1974), der eine für sympodiale Konidiophoren ungewöhnliche enteroblastische Entstehung aus einer sterilen Hyphe beschrieb. Auch hier bleibt bei weiterer Proliferation das untere Halbseptum mit Kragen einer vorangegangenen Konidiogenese vollständig erhalten.

Die Beispiele zeigen nach meiner Ansicht Übergänge zwischen "holoblastisch sympodial" und "enteroblastisch sympodial", aber nicht zu "annellidisch", da hier die Proliferation durch den Kragen der vorangegangenen Konidie erfolgen müßte.

3.7. Kreuzungsexperimente

3.7.1. Kreuzungen von haploiden Mycelien (Ergebnisse)

Die Ergebnisse der Kreuzungsexperimente mit neun verschiedenen haploiden Mycelien aus Einsporkulturen sind in folgender Tabelle zusammengefaßt:

	M	S	T	U	P	N	R	K	O
494 M		−	−	−	+	−	−	−	−
494 S	−		−	−	+	−	−	−	−
494 T	−	−		−	+	−	−	−	−
494 U	−	−	−		+	−	−	−	−
494 P	+	+	+	+		−	−	−	−
494 N	−	−	−	−	−		−	+	+
494 R	−	−	−	−	−	−		+	+
494 K	−	−	−	−	−	+	+		−
494 O	−	−	−	−	−	+	+	−	

Zeichenerklärung: + : Wachstum von Schnallenmycel
- : kein Schnallenmycel

Es können vier Gruppen mit identischem Kreuzungstyp zusammengestellt werden : 1) 494 M, 494 S, 494 T, 494 U
2) 494 P
3) 494 R, 494 N
4) 494 K, 494 O

Die Gruppen 1 und 2 sind miteinander kompatibel, ebenso die Gruppen 3 und 4. Bei den meisten der nicht kompatiblen Kreuzungspaare konnte eine Barragebildung festgestellt werden. Defekte Schnallen waren nie zu beobachten.

3.7.2. Kreuzungen mit Konidien (Ergebnisse)

Versuche auf MYP-Agar, 10°C, ergaben, daß die Konidien von T. incarnata in der Regel nicht mit einem echten Mycel auskeimen können.

Regelmäßig führte aber das Aufbringen einer Konidiensuspension des Stammes BM 494 S auf die Objektträgerkultur des Stammes 494 P innerhalb von ein bis zwei Tagen zum Wachstum von Schnallenmycel. Die beiden Stämme sind nach den Ergebnissen in 3.7.1 kompatibel.

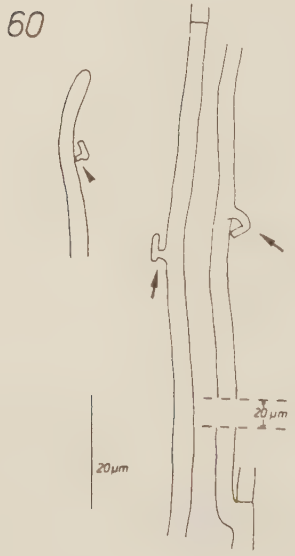


Abb. 60: Ein Tag nach Auftragen von Konidien (494 S) auf Objektträgerkultur von 494 P. Kurzer Keimschlauch an einer Konidie (kleiner Pfeil); zwei Konidien mit je einer Hyphe fusioniert (große Pfeile).

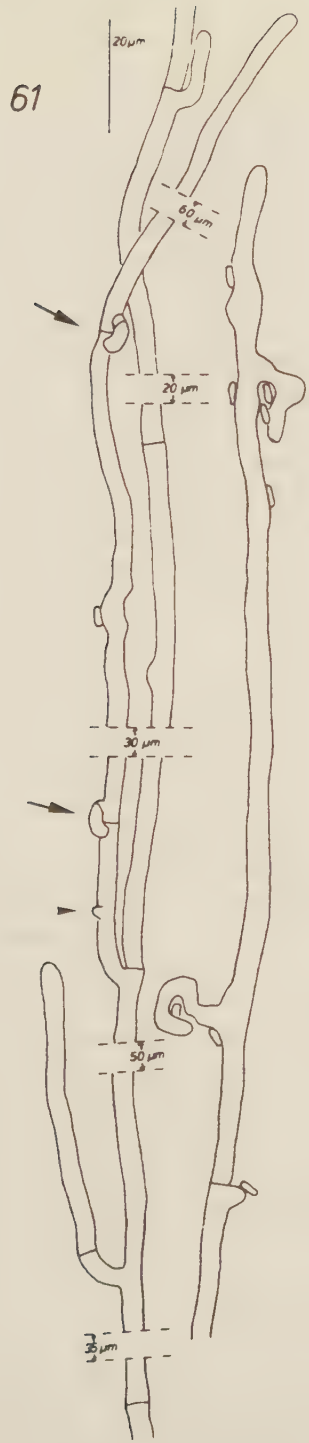
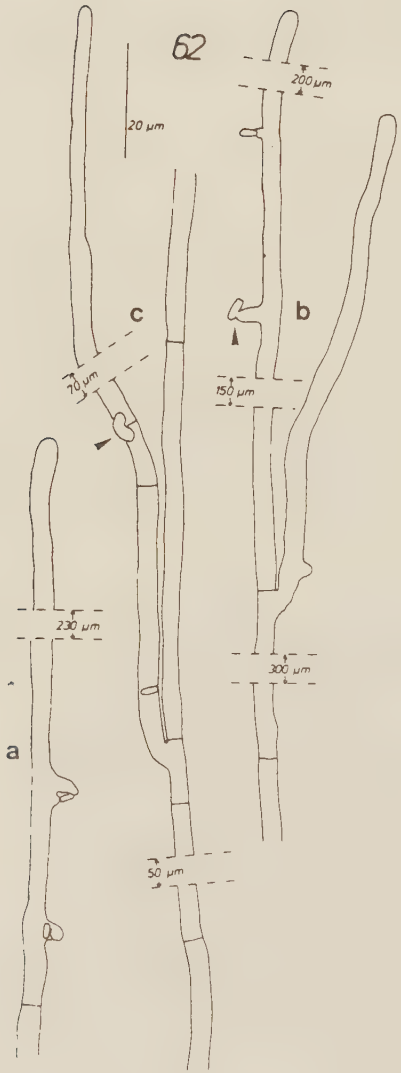
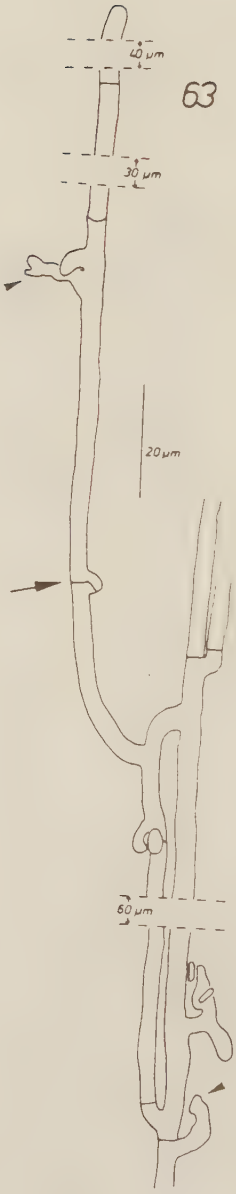


Abb. 61: Wachstum von Schnallenmycel (große Pfeile) in Fortsetzung von schnallenlosem, haploiden Mycel. Die Schnallensepten sind entsprechend der Wachstumsrichtung orientiert. Kleiner Pfeil: vermutliche Verschmelzungsstelle einer Konidie mit einer Hyphe. Die Hyphe rechts bildet Seitenzweige zu den Konidien hin.


62
20 µm
200 µm
c
b
70 µm
150 µm
230 µm
300 µm
a
50 µm


63
40 µm
30 µm
20 µm
60 µm

Dazu konnte folgendes beobachtet werden: Das Auskeimen einer Konidie mit einem kurzen Keimschlauch in Richtung einer Hyphe (Abb. 60), das gezielte Wachstum von Hyphenästen in Richtung von naheliegenden Konidien (Abb. 61, 62, 63) und schließlich Konidien, die mit Hyphen fusioniert sind (Abb. 60, 62 b, 63). Die Konidien sind meist auch noch nach ihrer Verschmelzung an ihren charakteristischen Basalplatten zu erkennen. Erste Schnallensepten konnten oft am zunächst schnallenlosen Mycel gefunden werden (Abb. 61, 62 c, 63). Die Zuordnung einer Schnallenbildung zu einer bestimmten vorangegangenen Konidien-Hyphen-Fusion ist jedoch oft problematisch. In einem Fall (Abb. 63) trat ein zur Wachstumsrichtung invers orientiertes Septum auf.

Abb. 62: a) Hyphenzweige wachsen auf Konidien zu. b) Fusion einer Konidie mit einem Hyphenauswuchs (Pfeil). c) Erstes Auftreten eines Schnallenseptums (Pfeil); die Verbindung zu einer vorausgegangenen Plasmogamie ist unklar.

Abb. 63: Oben: Konidie mit Hyphenauswuchs verschmolzen (kleiner Pfeil); man beachte die einfachen Septen darüber und das invers orientierte Schnallenseptum darunter (großer Pfeil). Es könnte durch die Wanderung des Konidienkerns in basaler Richtung entstanden sein. Die Orientierung des noch weiter basal liegenden Schnallenseptums ist unklar. Unten: Hyphenauswüchse neben Konidien; Fusionsstelle (kleiner Pfeil).

3.7.3. Diskussion der Kreuzungsexperimente

Aus Einsporkulturen von T. incarnata (BM 494) kann man vier Gruppen von Stämmen mit verschiedenen Kreuzungseigenschaften isolieren. Die dafür zugrundeliegende bifaktorielle Heterothallie wurde für T. incarnata auch von RØED (1969) und von BRUEHL et al. (1975 b) nachgewiesen. Die Angabe von LEHMANN (1965 a), daß die Schnallenbildung nach einem "streng bipolarem Schema" (also monofaktoriell) erfolge, beruht mit großer Sicherheit auf einem Irrtum, da sie nicht durch Daten belegt ist. Alle untersuchten Typhula-Arten weisen nach BERTHIER (1976) bifaktorielle (tetrapolare) Heterothallie auf.

Durch die Kenntnis des Kreuzungsverhaltens konnten gezielt Stämme ausgewählt werden, um die Rolle der Konidien bei der Dikaryotisierung aufzuklären.

Der bisher einzige Bericht über Konidien bei T. incarnata (syn. T. itoana) von REMSBERG (1940) ist ohne Bemerkung zu deren Keimungsfähigkeit. Auch BERTHIER (1976) macht außer dem Stichwort "vegetative Vermehrung" keine definitiven Angaben über das Keimungsverhalten der Konidien anderer Typhula-Arten. In der vorliegenden Untersuchung konnte nur eine auf einen kurzen Keimschlauch beschränkte Keimungsfähigkeit dieser schleimig-hydrophilen Konidien nachgewiesen werden (Abb. 60). Dies legte den Schluß nahe, daß sie bei der Dikaryotisierung eine Rolle spielen könnten.

Lichtmikroskopische Untersuchungen zeigen, daß die haploiden Hyphen in der Nähe von kompatiblen Konidien Verzweigungen ausbilden, welche auf die Konidien zuwachsen und sie auch manchmal umwachsen. In vielen Fällen resultiert dieses gezielte Wachstum in der Plasmogamie zwischen Hyphe und Konidie (Abb. 60, 62, 63). Gelegentlich ist neben der Fusionsstelle der Dikaryotisierungserfolg zu sehen: das Wachstum von Schnallenmycel (Abb. 62, 63).

Bei Clitocybe truncicola (BISTIS 1970), Coprinus- (KEMP 1970, 1975) und Psathyrella-Arten (KEMP 1970, JURAND 1975) wurden ebenfalls Wachstumsbewegungen von Hyphenspitzen oder -seitenzweigen zu Konidien hin beobachtet. Die Autoren vermuten, daß die Konidien eine noch unbekannte Substanz ausscheiden, die in den Hyphen Chemotropismus auslöst. KEMP nennt dies "homing reaction".

BISTIS (1970) dikaryotisierte haploide Mycelien mit kompatiblen Konidien. KEMP und JURAND fanden darüber hinaus, daß Wachstumsbewegungen auch durch nicht kompatible Stämme ausgelöst werden können, jedoch in der Regel nicht durch artfremde Stämme. Interessante Ausnahmen bilden sehr nah verwandte Arten, die zwar gegenseitig "homing reactions" hervorrufen, wenn es aber zur Plasmogamie kommt, nekrotisiert das Plasma. JURAND (1975) und KEMP (1975) benützen diese charakteristische Reaktion um Verwandtschaftsgrade zu testen. Es bietet sich an, derartige interspezifische Untersuchungen auch bei Typhula vorzunehmen, um BERTHIERS Gattungsuntergliederung zu verifizieren.

Vielfache Kernwanderungen über aufgelöste Septen hinweg, wie sie LEHFELDT (1923) bei T. erythropus, NOBLE (1937) bei T. trifolii, BISTIS (1970) bei Clitocybe truncicola und MARCHANT et al. (1974) und MAYFIELD (1974) an Schizophyllum commune beobachtet haben, wurden bei T. incarnata nicht festgestellt. Jedoch könnte das invers orientierte Schnallenseptum (Abb. 61) durch seitliches Ausbeulen der Hyphe am zunächst einfachen Septum und nach erfolgter basipetaler Kernwanderung durch sekundären Verschluß entstanden sein.

Die Tatsache allein, daß Konidien Kerne übertragen und ein haploides Mycel dikaryotisieren können, überrascht nicht. Innerhalb der Homobasidiomyceten ist aber die Kombination mit folgenden Eigenschaften ungewöhnlich:

1) Die Konidien von T. incarnata entstehen nur am haploiden Mycel dieser heterothallischen Art.
2) Sie entstehen nicht als Arthrosporen, sondern blastisch an besonderen Konidiophoren.
3) Sie haben eine schleimig-hydrophile Zellwand; sie sind "feucht".
4) Ihre Keimungsfähigkeit ist sehr gering.
5) Sie induzieren Hyphenwachstum, das man als "homing reaction" bezeichnen kann.

Ähnlich spezialisierte Konidieneigenschaften (mit Einschränkungen bei den Punkten 1 und 2) sind noch bei Coprinus- (BRODIE 1931, 1936, KEMP 1975) und Psathyrella-Arten (JURAND & KEMP 1972) bekannt. Manche Coprinus-Arten haben gleichzeitig feuchte und trockene Konidien.

KEMP (1977) regt an, daß feuchte Konidien, die "homing reactions" hervorrufen, "Spermatien" genannt werden sollten. Nach den vorliegenden Ergebnissen bin ich der Meinung, daß dieser Terminus auch für die Konidien von T. incarnata benutzt werden kann.

3.8. Das Wirt-Parasit-Verhältnis

3.8.1. Ergebnisse

a) Die Infektion mit Basidiosporen
Nach drei Tagen waren auf frischen Gerstenblättern von 195 Basidiosporen nur 15 (7,7%) gekeimt. davon alle nur mit einem kurzen Keimschlauch. Infektionen in Spaltöffnungen oder direkt in die Epidermis wurden nicht gefunden.

Von 66 Basidiosporen auf Gerstenblättern, die kurz vorher für einige Stunden eingefroren worden waren, keimten 18 (27%) aus. Auf der Blattoberfläche waren die Keimschläuche maximal 7 µm lang. Von einigen Basidiosporen wuchsen Keimschläuche in Spaltöffnungen hinein, wenn solche in der Nähe waren, und sie konnten im substomatären Interzellularraum lichtmikroskopisch nachgewiesen werden (Abb. 64). Im genannten Zeitraum wuchsen diese Infektionshyphen bis zu 90 µm (Verzweigungen mitgerechnet). Infektionen direkt durch die Epidermis konnten auch hier nicht festgestellt werden.

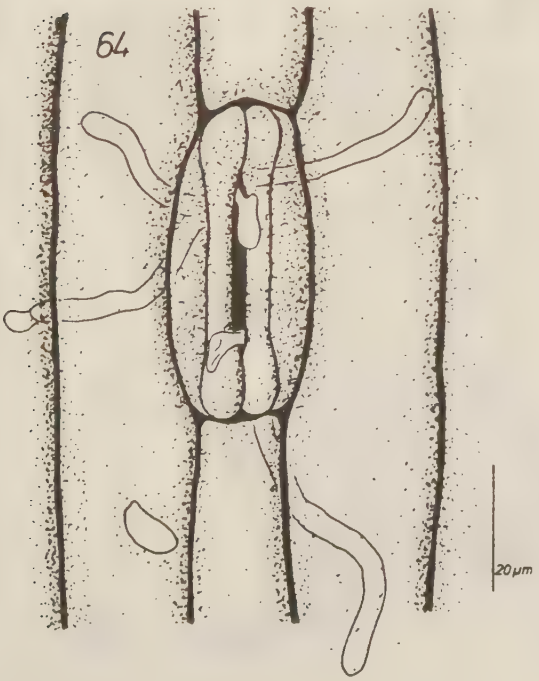


Abb. 64: Von zwei Basidiosporen neben einer Spaltöffnung sind Hyphen in den substomatären Interzellularraum gewachsen. Eine dritte Basidiospore liegt ungekeimt daneben.

Abb. 65: Dikaryotisches Mycel dringt durch eine Spaltöffnung in ein Gerstenblatt ein. Semidünnschnitt; Meßstrich ≙ 50 µm.

Abb. 66: Vitale, fest verschlossene Spaltöffnung mit Schließzellen (S) und Nebenzellen (Ne) (mit Zellkern N); das Mycel (Pfeile) befindet sich an der Außenseite.
GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 5 µm.

Abb. 67: Mycel dringt durch die Spaltöffnung (oben rechts) in das Blatt ein. Das Plasma von Schließ- und Nebenzellen ist nekrotisiert, die Nebenzellen sind kollabiert. Chlorenchymzelle 1 mit nekrotischem Plasma und geschädigten Chloroplasten; Zelle 2: beginnende Plasmadesintegration; Zelle 3: Plasmolyse; Zelle 4: noch weitgehend intakt. Kleine Pfeile: Zellwandprotuberanzen, möglicherweise frühere Verbindungsstelle zur Nachbarzelle. Dazwischen: Pilzzelle mit beginnender Nekrose. Großer Pfeil: Ungewöhnlich schwarznekrotische Pilzhyphe.
GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 10 µm.

65
66
S
N
Ne
67
Ne
1
2
3
4

b) Die Infektion mit Mycel
Nach einer Woche war das Mycel vom Impfstück einige Millimeter über das frische Gerstenblatt gewachsen. Auch hier konnte in keinem Fall direktes Eindringen in die Epidermis festgestellt werden. Eine Anzahl von Stomata blieb verschlossen und vital, auch wenn Mycel in der Nähe war (Abb. 66) . Durch andere Stomata wuchs jedoch sehr viel Mycel in den substomatalen Raum (Abb. 65, 67). Das Plasma der Schließzellen und Nebenzellen war hier nekrotisiert, die Nebenzellen kollabierten.

Chlorenchymzellen des substomatalen Raumes, welche mit Mycel in Kontakt kamen, zeigten verschiedene Stufen der Insuffizienz bzw. der Nekrose:
- Ablösung des Plasmalemmas von der Zellwand
- Auflösung der Vakuole und damit verbundene Desintegration des Plasmas
- Zerstörung der Thylakoidstruktur in den Chloroplasten
- Kollabieren der Zelle

An der Außenseite der Zellwände sind gelegentlich Appositionen sichtbar, die möglicherweise von früheren Kontaktstellen zu Nachbarzellen übrig sind.

Überraschenderweise sind neben toten Wirtszellen auch einige nekrotisierte Pilzzellen zu finden (Abb. 67). Eine ist stark vakuolisiert und plasmolysiert, andere sind angefüllt mit einer elektronendichten Masse und mit einigen unförmigen Lipidtropfen.

Der Infektionsversuch mit haploidem Mycel führte zum Befall der Jungpflanze. An der Wurzel wurde zwischen der Wurzelrinde und der Endodermis ein Sklerotium angelegt. Das Mycel zerstörte vorwiegend die Wurzelrinde. (Abb. 68).

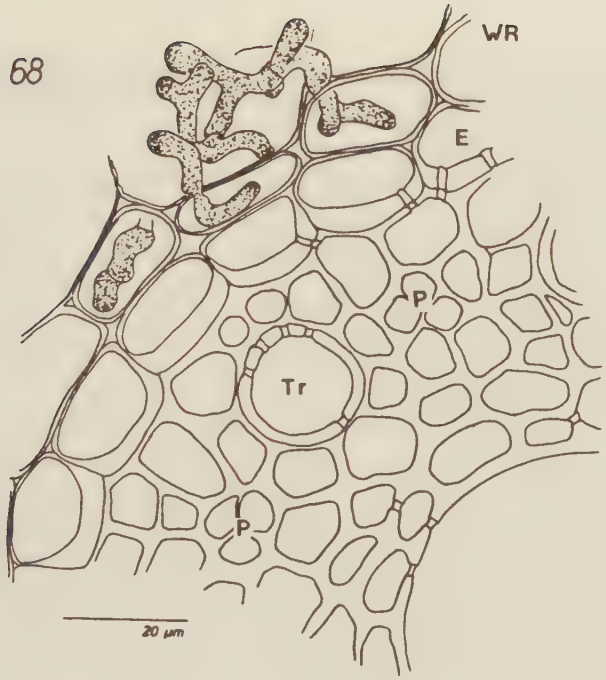


Abb. 68: Typhula-Mycel (494 R) hat die Wurzelrinde (WR) bereits weitgehend abgebaut, jedoch die dickwandige Endodermis (E) zum Zentralzylinder nicht passiert. P: Phloem, Tr: Trachee

c) Natürlich infizierte Pflanzen im Freiland:
Die äußeren Blätter der Pflanzen sind gefault, kleben am Boden zusammen und sind gräulich gefärbt. Zahlreiche dunkelbraune Sklerotien brechen aus den Blattscheiden und -lamina hervor und sind meist noch von Epidermisresten oder von Leitbündeln überzogen. Die inneren jungen Blätter der Pflanze sind meist noch grün und turgeszent, solange der Bestockungsknoten noch nicht befallen ist.

Ein Querschnitt durch die Blattscheiden nahe der Basis zeigt, daß die Infektion auf die äußeren Blätter konzentriert ist und daß die nächst jüngeren Blätter erst be-

fallen werden, wenn sich ein mehr oder weniger großes Stroma auf deren Oberfläche gebildet hat.

In den besiedelten Blättern finden sich keine vitalen Zellen mehr. Blattzellen aller Differenzierungen sind von Mycel durchwachsen (Abb. 69, 70, 71, 72). Die Wirtszellwände sind an der Durchtrittsstelle der Hyphen aufgelöst und nicht durch Callosepapillen o.ä. verändert. In stärker bewachsenen Geweben werden die Wirtszellwände immer dünner bis zum vollständigen Verschwinden (Abb. 70). Einzelne Wirtszellen werden durch kompaktes Mycel aufgetrieben.

An den Wurzeln treten Sklerotien seltener auf. Einige Untersuchungen zeigten Mischinfektionen mit anderen Pilzen. Gelegentlich konnten hier an Wirtszellwänden Callosepapillen an den Durchtrittsstellen des Mycels gefunden werden (Abb. 73).

Abb. 69, 70: Natürlich im Freiland infizierte Gerstenpflanzen.
Abb. 69: Querschnitt durch junge Blattscheiden. Die äußerste ist bereits stark befallen. Semidünnschnitt.
Meßstrich ≙ 200 µm.
Abb. 70: Längsschnitt an den Blattbasen. Die Zellwände des äußeren Blattes sind bereits aufgelöst (Pfeil). In einer Zelle bildet sich eine Sklerotienanlage aus (S).
Semidünnschnitt; Meßstrich ≙ 200 µm.

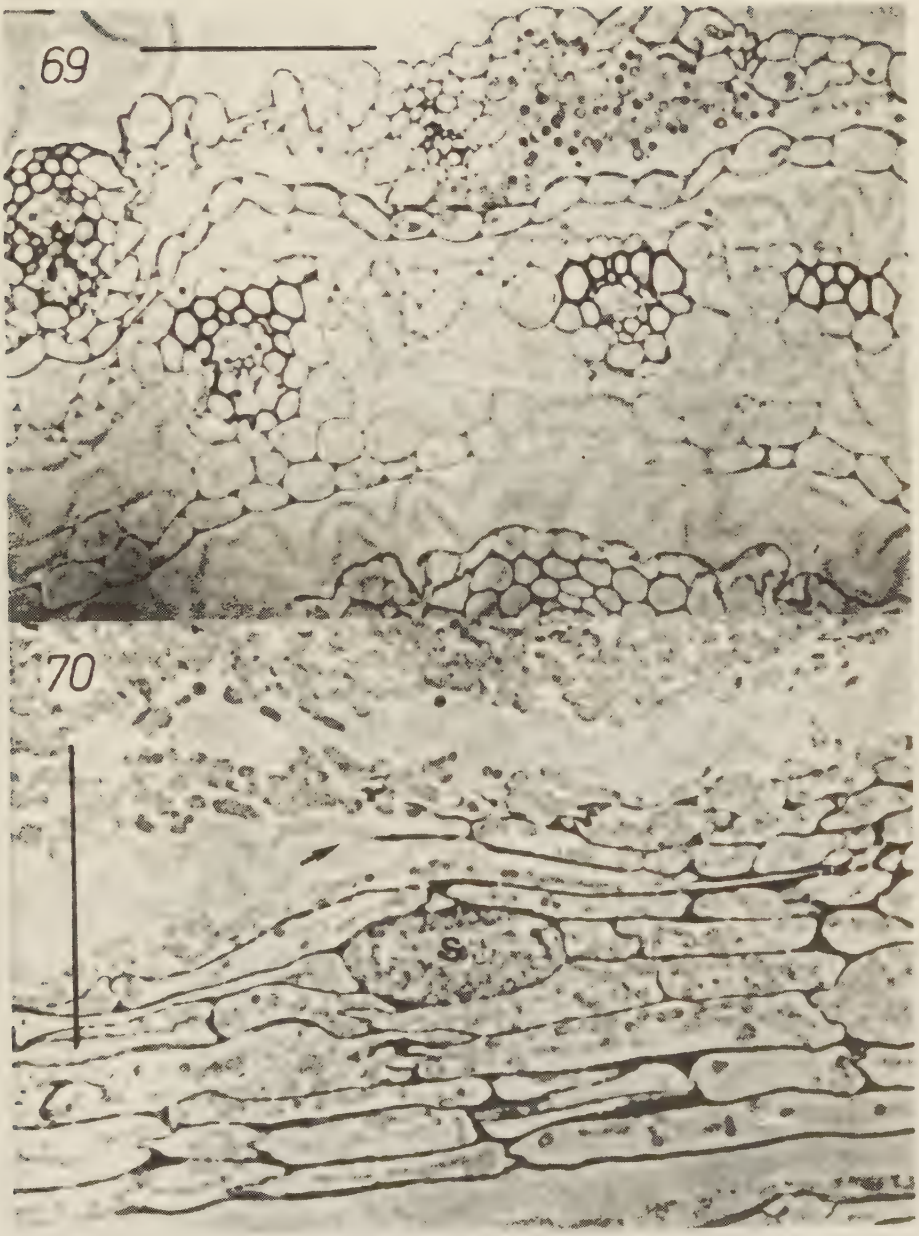

69
70
S

Abb. 71: Die Typhula-Hyphen wachsen durch alle Zelltypen des Blattes einschließlich der Leitbündel (unten). Callosepapillen werden nicht gebildet.
GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 10 µm.

Abb. 72: Weiteres Mycel im Blattgewebe.
GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 10 µm.

Abb. 73: Unbekannter pilzlicher Parasit in den Wurzeln einer Wintergerstenpflanze. Das Bild zeigt, daß die Gerste in der Lage ist, Callosepapillen (Ca) zu bilden, wenn Pilzhyphen lebende Zellen durchwachsen.
GA/OsO_4; Meßstrich ≙ 5 µm.

71
72
73
Ca

3.8.2. Diskussion

Während die Basidiosporen auf Agar fast zu 100 % auskeimten, betrug die Keimungsrate auf frisch abgeschnittenen Gerstenblättern nur 7,7 % und auf vorher gefrorenen Blättern 27,3 % innerhalb von drei Tagen. LEHMANN (1965 b) fand überhaupt keine gekeimten Basidiosporen auf frischen, wohl aber auf alternden Gerstenblättern. Daß die Sporen auf den Blättern nur kurze Keimschläuche ausbilden, in die Stomata hinein aber wesentlich längere, legt den Schluß nahe, mangelnde Feuchtigkeit könnte für die schwache Keimung verantwortlich sein. Ältere bzw. frostgeschädigte Blätter sind möglicherweise besser benetzbar und können keimenden Sporen mehr Feuchtigkeit liefern.

LEHMANN (1965 b) mißt den Basidiosporen für die Infektion eine geringere Bedeutung zu als dem vegetativen Mycel im Boden. HINDORF (1980 a) vermutet jedoch eine wichtige Funktion der Sporen bei der Verbreitung des Pilzes.

In keinem Fall konnte das Eindringen des Pilzes direkt durch die Epidermiszellen beobachtet werden. Da er jedoch im Inneren des Wirtes sehr wohl Zellwände zu durchdringen vermag (BERTHIER 1976 hat auch Cellulasen nachgewiesen), ist zu vermuten, daß die Cuticula das Eindringen des Pilzes verhindern kann. So bleibt nur der Infektionsweg über Stomata, Wurzelgewebe oder Wunden.

Dichter Verschluß und kurze Öffnungszeiten der Stomata könnten bei geringem Infektionsdruck eine Resistenzgrundlage der Wirtspflanze sein (vergl. Abb. 66). Liegen jedoch bereits durch Auswinterung o.ä. geschädigte Blätter am Boden, so kann der Pilz sicherlich von dort her über tote, d.h. offene Spaltöffnungen eindringen, sein Mycel vermehren und so den Infektionsdruck auf jüngere Blätter erhöhen. Das Infektionsexperiment mit dikaryotischem Mycel hat ge-

zeigt, daß Schließ- und Nebenzellen durch den Pilz abgetötet werden und so ihre Funktion verlieren. Die Frage, ob die Abtötung schon vor oder erst während der Infektion erfolgt, bleibt offen.

Auch im Blatt sterben die Wirtszellen in der Nachbarschaft von Pilzhyphen ab, bevor sie von diesen besiedelt werden. Es gibt Hinweise dafür, daß sich einzelne Wirtszellen voneinander ablösen, evtl. verursacht durch pectolytische Enzyme des Pilzes, welche die Mittellamelle abbauen (Abb. 67). Eine derartige Mazeration des Gewebes führt nach BATEMAN (1976) zum Zelltod. Da jedoch die Stomazellen und stark befallene Gewebeteile nicht auffallend mazeriert sind, ist eher zu erwarten, daß das Abtöten der Zellen eine andere stoffliche Ursache hat.

HIRAI (1956, fide LEHMANN 1965 b) wies nach, daß Mycel von T. incarnata ein vermutlich niedermolekulares Toxin ausscheidet. Ob es für die starke antibiotische Aktivität, die COLEY-SMITH (1978) an Sklerotien von T. incarnata feststellte, verantwortlich ist, ist unbekannt. LEBEAU (1972) berichtet von einer Korrelation zwischen der HCN-Produktion eines sterilen psychrophilen Basidiomycetenmycels und dessen Pathogenität für verschiedene Pflanzen. HCN-Produktion durch Typhula wurde nicht nachgewiesen.

Das Mycel von T. incarnata wächst nur in toten Zellen, nicht wie das Mycel von echten Parasiten (z.B. Uredinales, Erysiphales), das auf lebende Zellen angewiesen ist. Deshalb werden an den Durchwachsungsstellen in den Wirtszellwänden keine Callosepapillen ausgebildet, obwohl die Pflanze im vitalen Zustand dazu in der Lage ist, wie eine Fremdinfektion in der Wurzel zeigt (Abb. 73). Wegen des Abtötens der Wirtszellen vor ihrer Besiedelung und Nutzung als Nahrungsquelle muß T. incarnata als Perthophyt oder als patho-

gener Saprophyt bezeichnet werden (GÄUMANN 1951).

Abgestorbene Hyphen -zum Teil mit ungewöhnlichem elektronendichtem Plasma- neben absterbenden Wirtszellen (Abb. 67) könnten auf antifungische Substanzen, etwa Phytoalexine, hinweisen, die vom Wirtsgewebe gebildet werden. STOESSL (1967) identifizierte zwei antifungische "Hordatine" aus Gerste, welche von DEVERALL (1976) zu den Phytoalexinen gerechnet werden. LUDWIG et al. (1960) hatten zuvor schon in jungen Coleoptilen hohe antifungische Aktivität gegen Helminthosporium sativum gefunden. Bei geringem Befallsdruck auf junges Gewebe können diese Phytoalexine möglicherweise die Ausbreitung des Typhula-Mycels verhindern.

4. ZUSAMMENFASSUNG

Der Entwicklungszyklus von Typhula incarnata Lasch ex Fr., dem Erreger der Typhula-Fäule der Wintergerste, wurde anhand von Freilandaufsammlungen und davon abgeleiteten Laborkulturen licht- und elektronenmikroskopisch verfolgt. Die Hauptgesichtspunkte dieser Studie sind die Ultrastruktur der Sklerotienentwicklung, der Fruchtkörperbau, die Konidiogenese, das Kreuzungsverhalten der Konidien und das Wirt-Parasit-Verhältnis.

Das Sklerotium ist aus einer einschichtigen pseudoparenchymatischen Rinde und einer dicht-plectenchymatischen Medulla aufgebaut. Die Rindenzellen haben eine stark verdickte, melanisierte Außenwand, deren Entstehung erstmals im Detail verfolgt wurde. Sie ist widerstandsfähig gegen mikrobielle Angriffe. Medullazellen enthalten bisher unbekannte linsenförmige Zellwandappositionen, offensichtlich anderer Zusammensetzung als die Zellwand selbst. Ihre Funktion als Nährstoffspeicher wird diskutiert. Bei der karpogenen Keimung werden die dicken Zellwände und die genannten Auflagerungen in der Medulla abgebaut, nicht jedoch die melanisierte Rindenschicht.

Der Fruchtkörperbau wurde anatomisch untersucht und dargestellt. Die charakteristische Schichtung der Basidiosporenwand konnte gezeigt werden.

Haploide Stämme von T. incarnata bilden in älteren Kulturen unter UV-A-Beleuchtung hyaline Konidien mit hydrophiler Schleimhülle. Es konnte eine für Basidiomyceten bisher unbekannte Form der annellidischen Konidiogenese mit einer schwachen Tendenz zur sympodialen Proliferation diagnostiziert werden. Die konidiogenen Zellen produzieren in basipetaler Reihenfolge Blastokonidien, wobei sie sich mit jeder Konidienbildung etwas verlängern. Die Proliferation

erfolgt aber nicht immer exakt durch den Kragen der vorhergehenden Konidie, sondern bezieht oft seitlich angrenzende Bezirke der periklinen Wand mit ein. Der Sachverhalt wird ausführlich diskutiert, auch unter Einbeziehung von Beispielen aus den Ascomyceten.

Der Kreuzungsmechanismus ist bifaktoriell. Um die Funktion der schlecht keimenden Konidien zu klären, wurde Mycel eines haploiden Stammes auf Objektträgerkulturen herangezogen und darauf eine Konidiensuspension eines kompatiblen Stammes aufgetragen. Das Mycel reagierte mit Wachstumsbewegungen auf die Konidien hin ("homing reactions"), es kam zu Plasmogamie und zu Wachstum von Schnallenmycel. Eine Reihe von Eigenschaften der Konidien spricht dafür, daß sie "Spermatien" genannt werden können.

Zum Wirt-Parasit-Verhältnis wurden Infektionsversuche mit Basidiosporen und mit dikaryotischem Mycel auf frischen und auf frostgeschädigten Gerstenblättern angestellt. Ultrastrukturelle Befunde zeigen, daß die Infektion über die Spaltöffnungen erfolgt, wobei bei frischen Blättern intakte und gut verschließbare Spaltöffnungen bei geringem Infektionsdruck das Eindringen des Pilzes verhindern können. Ist eine Infektion erfolgt, können sowohl abgetötete Pflanzenzellen als auch charakteristisch nekrotisch veränderte Pilzzellen in unmittelbarer Nachbarschaft gefunden werden. Zum letztgenannten Punkt werden Phytoalexine als Ursache diskutiert.

5. LITERATUR

Bateman, D. F. (1976): Cell wall hydrolysis by pathogens. In: Friend, J. & Threlfall, D. R.: Biochemical aspects in plant-parasite relationships. London.

Beckett, A., Heath, I. B. & McLaughlin D. J. (1974) : An Atlas of Fungal Ultrastructure. London.

Berthier, J. (1976): Monographie des Typhula Fr., Pistillaria Fr. et genres voisins. Bull. Soc. Linn. Lyon, numéro special, 214 p.

Bistis, G. N. (1970): Dicaryotisation in Clitocybe truncicola. Mycologia 62: 911-923.

Bloomfield B. J. & Alexander, M. (1967): Melanins and resistance of fungi to lysis. J. Bact. 93: 1276-1280.

Brodie, H. J. (1931): The oidia of Coprinus lagopus and their relation with insects. Ann. Bot. 45: 315-345.

Brodie, H. J. (1936): The occurrence and function of oidia in the Hymenomycetes. Am. J. Bot. 23: 309-327.

Bruehl, G. W. & Cunfer, B. M. (1975): Typhula species pathogenic to wheat in the Pacific nothwest. Phytopathology 65: 755-760.

Bruehl, G. W., Machtmes, R. & Kiyomoto, R. (1975): Taxonomic relationships among Typhula as revealed by mating experiments. Phytopathology 65: 1108-1114.

Burnett, J. H. (1976): Fundamentals of Mycology. 2nd Ed. London.

Chet, I., Henis, Y. & Kislev, N. (1969): Ultrastructure of sclerotia and hyphae of Sclerotium rolfsii Sacc.. J. gen. Microbiol. 57: 143-147.

Chet, I., Henis, Y. & Mitchell, R. (1967): Chemical composition of hyphal and sclerotial walls of Sclerotium rolfsii Sacc.. Can. J. Microbiol. 13: 137-141.

Chet, I. & Hüttermann, A. (1982): De novo synthesis of polyphenol oxidase (Laccase) during formation of sclerotia in Sclerotium rolfsii. FEMS Microbiology Letters 14: 211-215.

Clemençon, H. (1970): Bau der Wände der Basidiosporen und ein Vorschlag zur Benennung ihrer Schichten. Z. Pilzk. 36: 113-133.

Clemençon, H. (1977): Die Strukturen der Basidiosporenwand und des Apikulus, und deren Beziehung zur Exogenisation der Spore. Persoonia 9: 363-380.

Cole, G. T. & Samson, R. A. (1979): Patterns of Development in Conidial Fungi. London.

Coley-Smith, J. (1979): Survival of plant pathogenic fungi in soil in the absence of host plants. In: Schippers, B. & Gams, W.: Soil-Borne Plant Pathogens. p. 39-57. London.

Colotelo, N., Sumner, J. L. & Voegelin, W. S. (1971): Chemical studies on the exudate and developing sclerotia of Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) DeBary. Can. J. Microbiol. 17: 1189-1194.

Corner, E. J. H. (1948): Studies on the basidium. I. The ampoule effect, with a note to nomenclature. New Phytol. 47: 22-51.

Corner, E. J. H. (1950): A monograph of Clavaria and allied genera. Ann. Bot., mem. 1, Oxford, London.

Corner E. J. H. (1970): Supplement to "A monograph of Clavaria and allied genera". Beih. Nova Hedwigia 33: 299p.

Dejardin, R. & Ward, E. (1971): Growth and respiration of psychrophilic species of the genus Typhula. Can. J. Bot. 49: 339-347.

Deverall, B. J. (1976): Current perspectives in research on phytoalexins. In:Friend, J. & Threlfall, D. R.: Biochemical aspects of plant-parasite relationships. London.

Domsch, K.-H. , Gams, W. & Anderson, T. H. (1980): Compendium of soil fungi. London.

Donk, M. (1964): A conspectus of the families of Aphyllophorales. Persoonia 3: 199-324.

Flegler, S. L., Hooper, G. R. & Fields, W. G. (1976): Ultrastructural and cytochemical changes in the basidium in the basidiomycete dolipore septum associated with fruiting. Can. J. Bot. 54: 2243-2253.

Gäumann, E. (1951): Pflanzliche Infektionslehre. Basel.

Girbardt, M. (1969): Die Ultrastruktur der Apikalregion von Pilzhyphen. Protoplasma 67: 413-441.

Glawe, D. A. (1983): Observations on the anamorph of Diatrypella frostii. Mycologia 75: 913-915.

Glawe, D. A. & Rogers. J. D. (1982a):Observations on the anamorphs of six species of Diatrype and Diatrypella. Can. J. Bot. 60: 245-251.

Glawe, D. A. & Rogers, J. D. (1982b): Observations on the anamorphs of six species of Eutypa and Eutypella. Mycotaxon 14: 334-346.

Grigo, E. (1978): Zur Typhula-Fäule der Wintergerste. Gesunde Pflanzen 30: 80-88.

Harder, D. E. & Chong, J. (1978): Ultrastructure of spermatium ontogeny in Puccinia coronata avenae. Can. J. Bot. 395-403.

Harvey, I. C. (1974): Light and electron microscope observations of conidiogenesis in Pleiochaeta setosa (Kirchn.) Hughes. Protoplasma 82: 203-221.

Hindorf, H. (1980): Bedeutung der Sporophoren von Typhula incarnata Lasch ex Fr. für die Ausbreitung der Wintergersten-Fäule. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent 45: 121-127.

Hindorf, H. (1980b): Zum Auftreten der Sporophoren von Typhula incarnata im rheinischcne Wintergersten-Anbau. Z. PflKrankh. PflSchutz.87: 501-508.

Hoch, H. C. & Howard, R. J. (1981): Conventional Chemical Fixations induce artificial swelling of dolipore septa. Exp. Mycology 5: 167-172.

Honold, A. (1982): Heterobasidion annosum (Fr.) Bref. Ontogenie und Systematik. Dissertation, Tübingen.

Huber, D. M. & Anderson, G. R. (1976): Effect of organic residues on snowmold of winter wheat. Phytopathology 66: 1028-1032.

Imai, S. (1936): On the causal fungus of the Typhula-blight of gramineous plants. Japanese J. Bot. 8: 5-18.

Jurand, M. K. (1975): Breeding biology of the genus Psathyrella. Ph.D. Thesis, Edinburgh.

Jurand, M. K. & Kemp, R. F. O. (1972): Surface ultrastructure of oidia in the Basidiomycete Psathyrella coprophila. J. Gen. Microbiol. 72: 575-579.

Keller, J. (1974): Contribution à la conaissance de l'infrastructure de la paroi sporique des Aphyllophorales. Thèse, Univ. Neuchâtel.

Kemp, R. F. O. (1970): Inter-specific sterility in Coprinus bisporus, C. congregatus and other Basidiomycetes. Trans. Br. mycol. Soc. 54: 488-489.

Kemp, R. F. O. (1975): Breeding biology of Coprinus species in the section Lanatuli. Trans. Br. mycol. Soc. 65: 375-388.

Kemp, R. F. O. (1977): Oidial homing and the taxonomy and speciation of Basidiomycetes with special reference to the genus Coprinus. In: Clemençon, H.: The species concept in Hymenomycetes. Vaduz.

Kendrick, B. (1971): Conclusions and recommendations. In Kendrick, B.: Taxonomy of Fungi imperfecti. Toronto.

Kendrick, B. & Watling, R. (1979): Mitospores in Basidiomycetes. In: Kendrick, B. (ed.): The Whole Fungus, vol. II, Nat. Mus. Canada.

Khan, S. R. & Kimbrough, J. W. (1982): A reevaluation of the Basidiomycetes based upon septal and basidial structures. Mycotaxon 15: 103-120.

Koske, R. E. & Perrin, P. W. (1971): Basidiocarps, annelloconidia, and sclerotia in agar cultures of Pistillaria (Clavariadelphaceae). Can. J. Bot. 49: 695-697.

Kost, G. (1981): Vergleichende morphologische, anatomische und feinstrukturelle Merkmalsstudien an Arten der Gattung Tricholoma (Fr.) Staude, Sektion Genuina (Fr.) Sacc. Dissertation, Tübingen.

Kreger-Van Rij, N. I. W. & Veenhuis, M. (1971): A comparative study of cell wall structure of basidiomycetous and related yeasts. J. Gen. Microbiol. 68: 87-95.

Kühner, R. (1973): Architecture de la paroi sporique des Hyménomycètes et ses différenciations. Persoonia 7: 217-248.

Lebeau, J. B. (1972): Hydrogen cyanide production by virulent isolates of a psychrophilic fungus in their interaction with alfalfa, winter wheat, and different species of grass. In: Wood, R. K. S. et al. (ed.): Phytotoxins in plant diseases. London.

Lehfeldt, W. (1923): Über die Entwicklung des Paarkernmycels bei heterothallischen Basidiomyceten. Hedwigia 64: 13-51.

Lehmann, H. (1965a): Untersuchungen über die Typhula-Fäule des Getreides I. Zur Physiologie von Typhula incarnata Lasch ex. Fr.. Phytopath. Z. 53: 255-288.

Lehmann, H. (1965b): dto. II. Zur Pathologie durch Typhula incarnata Lasch ex Fr. erkrankter Wirtspflanzen. Phytopath. Z. 54: 209-239.

Lerbs, V. (1971): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an meiotischen Basidien von Coprinus radiatus (Bolt) Fr.. Arch. Microbiol. 77: 308-330.

Ludwig, R. A., Spencer, E. Y. & Unwin C. H. (1960): An antifungal factor from barley of possible significance in disease resistance. Can. J. Bot. 38: 21-29.

Madelin, M. F. (1979): An apprisal of the taxonomic significance of some different modes of producing blastic conidia. In: Kendrick, B. (ed.) The Whole Fungus Vol.I. Nat. Mus. Canada.

Marchant, R. & Wessels, J. G. H. (1974): An ultrastructural study of septal dissolution in Schiziphyllum commune. Arch. Microbiol. 96: 175-182.

Mayfield, J. E. (1974): Septal involvement in nuclear migration in Schizophyllum commune. Arch. Microbiol. 95: 115-124.

McLaughlin, D.J. (1982): Ultrastructure and cytochemistry of basidial and basidiospore development. In: Wells, K. & Wells, E. (ed.): Basidium and basidiocarp. New York.

Metzler, B. (1981): Pyknidialstruktur und Pyknosporogenese bei Gymnosporangium fuscum DC. Z. Mycol. 47: 271-280.

Mielke, H. (1977): Untersuchungen der Jahre 1975 und 1976 über die Anfälligkeit von Wintergerstensorten für Typhula incarnata Lasch ex Fr. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. (Braunschweig) 29: 42-55.

Minter, D. W. , Kirk, P. M. & Sutton, B. C. (1982): Holoblastic phialides. Trans Br. mycol. Soc. 79: 75-93.

Mittnacht, G. (1980): Getreidekrankheiten nicht nur mit der Spritze bekämpfen. Württ. Wochenbl. Landwirtschaft 147: 20,22.

Moser,M. (1983): Die Röhrlinge und Blätterpilze (5. Aufl.)(Kleine Kryptogamenflora IIb/2). Stuttgart.

Müller, E. (1979): Factors inducing asexual and sexual sporulation in Fungi (mainly Ascomycetes). In. Kendrick, B.(ed.): The Whole Fungus, vol. I. Nat. Mus. Canada.

Noble, M. (1937): The morphology and cytology of Typhula trifolii Rostr.. Ann. Bot. N.S. 1: 67-98.

Oberwinkler, F. (1977): Das neue System der Basidiomyceten. In: Frey, W. et al. (Hrsg.): Beiträge zur Biologie der niederen Pflanzen. Stuttgart.

Oberwinkler, F. (1979): Beziehungen aphyllophoraler zu agaricoiden Basidiomyceten. Beihefte zur Sydowia, Ann. Mycol. Ser. II. 8:276-289.

Patton, A. M. & Marchant, R. (1978): A mathematical analysis of dolipore/parenthesome structure in Basidiomycetes. J. Gen. Microbiol. 109: 335-349.

Remsberg, R. (1940): Studies in the genus Typhula. Mycologia 32: 52-96.

Rifai, A. (1969): A revision of the genus Trichoderma. Culture studies on Hypocrea and Trichoderma V. Mycological Papers 110.

Rijkenberg, F. H. J. & Truter, S. J. (1974): The ultrastructure of sporogenesis in the pycnial stage of Puccinia sorghi. Mycologia 66: 319-326.

Røed, H. (1969): Et bidrag til oppklaring av forholdet mellom Typhula graminum Karst. og. Typhula incarnata Lasch ex Fr.. Friesia 9:219-225.

Rosenberger, R. F. (1976): The cell wall. In: Smith & Berry: The Filamentous Fungi, Vol.2: Biosynthesis and metabolism. p. 328-344. London.

Sautter, C. (1978): Vergleichende morphologische und anatomische Untersuchungen an Polyporaceen. Dissertation, Tübingen.

Schmitter, A. (1984): Vergleichende Untersuchungen zur Aufklärung von Verwandtschaftsverhältnissen innerhalb der Gattung Ustilago (Pers.) Roussel. Dissertation, Tübingen.

Scurti, J. C. & Converso, L. (1965): Sulla struttura microscopica e ultramicroscopica degli sclerozi di Typhula sp.. Caryologia 18: 263-284.

Stoessl, A. (1967): The antifungal factors in barley. IV. Isolation, structure, and synthesis of the hordatines. Can. J. Chem. 45: 1745-1760.

Sweets, L. E. & Stienstra, W. C. (1976): Effect of environmental factors on the growth of Typhula species and Sclerotinia borealis. Proc. Am. Phytopathol. Soc. 3: 228-229.

Thielke, C. (1974): Intranucleäre Spindel und Reduktion des Kernvolumens bei der Meiose von Coprinus radiatus (Bolt.) Fr. Arch. Microbiol. 98: 225-237.

Volk, A. (1937): Untersuchungen über Typhula graminum Karst. Z. Pflanzenkrankheiten 47: 338-365.

Watling, R. (1979): The morphology, variation and ecological significance of anamorphs in the Agaricales. In: Kendrick, B. :The Whole Fungus, Vol II. Nat. Mus. Canada.

Wells, K. (1964): The basidia of Exidia nucleata. I. Ultrastructure. Mycologia 56: 327-341.

Wells, K. (1965): Ultrastructural features of developing and mature basidia and basidiospores of Schizophyllum commune. Mycologia 57: 236.261.

Willets, H. J. (1972): The morphogenesis and possible evolutionary origins of fungal sclerotia. Biol. Rev. (Camb.) 47: 515-536.

Willets, H. J. (1978): Sclerotium formation. In: Smith, J. E. & Berry, D. R.: The Filamentous Fungi, Vol. 3: 197-213. London.

LEBENSLAUF

Berthold Martin Metzler
geboren am 4. 9. 1953 in Altshausen
Eltern: Hermann Metzler, Bankkaufmann und Landwirt
Genovefa Metzler, geb. Baur

1960 - 1964	Volksschule Münchenreute
1964 - 1969	Progymnasium St. Johann, Blönried
1969 - 1972	Spohngymnasium Ravensburg
26.6.1972	Abitur
1972 - 1974	Bundeswehr
WS 74/75	Immatrikulation an der Universität Tübingen im Fach Biologie (Diplom)
1979 - 1980	Anfertigung einer Diplomarbeit am Institut für Biologie I, Lehrbereich Spezielle Botanik, unter Anleitung von Prof. Dr. F. Oberwinkler, über das Thema "Ontogenie von Gymnosporangium fuscum DC. (Uredinales) in der Haplophase und damit verbundene Wirt-Parasit-Beziehungen"
30.4.1980	Diplom in Biologie
20.6.1980	Heirat mit der Sozialarbeiterin Maria Boos-Metzler geb. Boos
31.8.1983	Geburt unserer Tochter Rita Iris
1980 - 1984	Anfertigung der Dissertation bei Prof. Dr. F. Oberwinkler.

Meine akademischen Lehrer waren:

R. Agerer, D. Ammermann, F.W. Bentrup, V. Braun, D. Bunke,
W. Engels, J. Guglielmi, K.G. Grell, K.-P. Hadeler, A. Hager,
K. Hantke, W. Harder, H. Haselmann, F. Jüttner, G. Jung,
E. Kulzer, O. Klee, W. Loeffler, H. Meier, G. Mickoleit,
F.P. Möhres, J. Neugebauer, F. Oberwinkler, W. Rähle,
A. Rieker, E. Sander, H. Schenk, H. Schönnamsgruber,
B. Schwemmle, H. Seiler, J. Strähle, H. Straub, S. Winkler,
H. Zähner.

Druck und Verarbeitung: copy shop, darmstadt, tel. 21353